Aus der Orthopädischen Klinik und Poliklinik
der Freien Universität Berlin
im Oskar-Helene-Heim
Direktor: Professor Dr. med. G. Friedebold

Die primär angiogene Osteotomieheilung unter dem Einfluß von elektrischem Gleichstrom

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Cornel Werhahn

aus Berlin

1975

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547206_0041

Aus der Orthopädischen Klinik und Poliklinik
der Freien Universität Berlin
im Oskar-Helene-Heim
Direktor: Professor Dr. med. G. Friedebold

Die primär angiogene Osteotomieheilung unter dem Einfluß von elektrischem Gleichstrom

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Cornel Werhahn
aus Berlin

Referent: Professor Dr. med. M. Weigert

Korreferent: Professor Dr. med., Dr. re. nat. U. Hegel

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 26.11.1975

Inhaltsverzeichnis Seite

Einleitung 6

Bioelektrik des Knochens 6

Literaturrückblick 6

1. Piezoelektrische Potentiale 6
   a) Der Begriff Piezoelektrizität 6
   b) Longitudinal- und Transversaleffekt 8
   c) Die Piezoelektrizität des Knochens 8

2. Permanente Gleichstrompolarisierung 17
   a) Methode 17
   b) Ableitungen vom Tier 18
   c) Ableitungen vom Menschen 18
   d) Rheogene Potentiale 18

3. Frakturpotentiale 19
   a) Elektronegativ und elektropositiv in Beziehung zum Knochenstoffwechsel 19
   b) Das Knochenpotential nach Fraktur der Kaninchentibia 19
   c) Das Knochenpotential bei frakturierten menschlichen Extremitäten 19
   d) Die Grünholzfraktur und die sie begleitenden elektrischen Phänomene beim Frosch 20

Seite

4. Wachstumspotentiale 20

a) Elektrische Polarisierung im Säulenknorpel 20

b) Verschluß der Epiphyse und begleitende bioelektrische Phänomene 20

c) Elektrische Stimulierung des Längenwachstums langer Röhrenknochen 21

5. Das Wolff'sche Gesetz der Transformation der Knochen 21

a) Das Wolff'sche Gesetz 21

b) Das Wolff'sche Gesetz verbunden mit der Halbleiter-Gleichrichter-Theorie 21

c) Die mechanische Hypothese des Knochenneubaus 23

d) Einfluß der bioelektrischen Potentiale auf die Fraktur beim Ochsenfrosch 23

6. Bisherige Versuche zur Anwendung von elektrischen Strömen auf den Knochen 23

a) Stimulierung der Osteogenese mit verschiedenen Stromstärken und Stromarten 23

b) Anwendung von Induktionsstrom auf die Frakturheilung 25

c) Nachteile der bisher verwandten Stromeinheiten 27

d) Gleichstromeinheit nach WEIGERT und MÜLLER 27

Seite

e) Die Frakturheilung unter dem Einfluß von Gleichstrom und alternierendem Gleichstrom 27

f) Der zeitliche Ablauf der endostalen Knochenbildung durch Gleichstrom 29

g) Der Einfluß von Gleichstrom auf die Heilung von: 30

α) Corticalisdefekten 30

β) Fibulafrakturen und Tibiaosteotomien 31

γ) Pseudarthrosen 31

Querosteotomien 32

h) Knochenbildung und Sauerstoffverbrauch 34

i) Messung der Knochenpotentiale bei Elektrostimulation 34

j) Stimulierung der Callusbildung beim Menschen 35

Experimentelle Untersuchung 38

1. Problemstellung 38

2. Versuchstiere 40

3. Methoden 40

a) Versuchsanordnung 40

b) Beschreibung der Operation 41

c) Stromstärke und Elektrodenanordnung 43

d) Knochenmarkierung mit Fluochromen 44

e) Gefäßdarstellung 48

Seite

f) Histologische Technik 49

α) Spalteholztechnik 49
β) Paraffinhistologie 51
γ) Kunststoffeinbettung 55

g) Mikroskop und Fotozubehör 55

Ergebnisse 58

1. Postoperativer Verlauf 58

2. Primäre Knochenbruchheilung 61

3. Die primär angiogene Knochenbruchheilung unter dem Einfluß von elektrischem Gleichstrom von 5 µ A Stromstärke 64

a) Gruppe I - Versuchsdauer 31-34 Tage 67
b) Gruppe II - Versuchsdauer 44-57 Tage 81
c) Gruppe III - Versuchsdauer 64-77 Tage 90
d) Gruppe IV - Kontrollserie 98

4. Statistische Auswertung der Osteotomiespaltbreite 100

a) Methode 100

b) Statistische Grundlagen 102

c) Statistische Auswertung 105

5. Zusammenfassung und Interpretation der Ergebnisse 106

Seite

Diskussion 108

1. Methodenkritik 108

2. Histogenese und Morphogenese des Knochens 109

3. Die Veränderung des Milieu interne des Knochens durch bioelektrische Signale 110

a) Die Veränderung der Zellumgebung 110

b) Die Veränderung in der extrazellulären Matrix 111

c) Verschiebung der Ionenkonzentration durch Anode und Kathode 113

4. Das Biopotential und die Frakturheilung 114

a) Das Druckpotential und die Frakturheilung 114

b) Die Bildung des Osteoids 115

c) Die Mineralisierung des Osteoids 119

d) Schematische Darstellung des biophysikalischen Regelkreises 123

Zusammenfassung 125

Literaturverzeichnis 126

Einleitung

Bioelektrik des Knochens

In den letzten Jahren häufen sich die Berichte über bioelektrische Eigenschaften des Knochens. Die Autoren stellten elektrische Spannungen im Knochengewebe fest und konnten sowohl im Tierexperiment als auch am Menschen die Beeinflussung der Osteogenese durch elektrischen Strom nachweisen (8, 24, 28, 32, 44, 58, 82, 107, 124-138).

Es ist das Ziel der vorliegenden Arbeit, die Beeinflussung der Frakturheilung durch elektrischen Gleichstrom unter fluoreszenzmikroskopischer, angiologischer und röntgenologischer Kontrolle zu untersuchen.

Literaturrückblick

Wir unterscheiden am Knochen vier verschiedene Arten von elektrischen Potentialen:

1. Piezoelektrische Potentiale
2. Permanente Gleichstrompolarisierung
3. Frakturpotentiale
4. Wachstumspotentiale

1. a) Der Begriff Piezoelektrizität

Unter Piezoelektrizität versteht man die Eigenschaften zahlreicher anorganischer Kristalle bei mechanischer Krafteinwirkung an bestimmten Kristalloberflächen elektrische Ladungen zu erzeugen. Die Piezoelektrizität beschränkt sich auf Ionengitterkristalle mit polaren Achsen. Dieses Phänomen wurde im Jahre 1880 von dem Ehepaar CURIE entdeckt und als direkter Piezoeffekt bezeichnet.

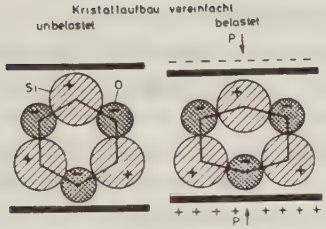


Abb. 1 Longitudinaler Piezoeffekt
(aus G. SPESCHA, E. VOLLE, Piezoelektrische Meßgeräte, Messen und Prüfen, Heft 2/3, 14, 1967)

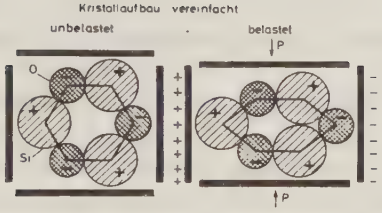


Abb. 2 Transversaler Piezoeffekt
(aus G. SPESCHA, E. VOLLE, Piezoelektrische Meßgeräte, Messen und Prüfen, Heft 2/3, 14, 1967)

Tafel: 1

b) Longitudinal- und Transversaleffekt

Auf Grund des Entstehungsmodus unterscheiden wir bei der Piezoelektrizität einen Longitudinal- und einen Transversaleffekt.
Beim Longitudinaleffekt werden die negativen und die positiven Gitterpunkte in Richtung der polaren Achse so verschoben, daß man entgegengesetzte Ladungen an den Angriffsflächen der Kraft messen kann (Abb. 1, Tafel: 1, S.7).

Beim Transversaleffekt laden sich durch Einwirkung einer Kraft in Richtung der neutralen Kristallachse die Kristalloberflächen der dazu senkrechten polaren Achse entgegengesetzt elektrostatisch auf (Abb. 2, Tafel: 1, S. 7).

c) Piezoelektrizität des Knochens

JOHNSON vermutete als erster, daß die kristalline Struktur des Knochens piezoelektrische Eigenschaften zeigen könnte.
1954 wies YASUDA die Oberflächenpotantialisierung des Knochens bei mechanischer Verformung nach.
Drei Jahre später beschrieben FUKADA und YASUDA am Knochen außerdem indirektes piezoelektrisches Verhalten, d.h. der Knochen wird durch ein von außen einwirkendes elektrisches Feld verformt. Die Autoren maßen die piezoelektrischen Konstanten von menschlichen und tierischen Femura. In ihren Versuchsserien stellten sie fest, daß ein piezoelektrisches Signal in Abhängigkeit von dem Winkel zwischen verformender Kraft und Knochenlängsachse auftrat. Das Potentialmaximum entstand bei einem Winkel von 45° zwischen Druck- und Längsachse.
YASUDA beobachtete den Piezoeffekt an Knochenpräparaten, die er so lange in Säure gelegt hatte,

bis die zwischen den Kollagenfasern liegenden Apatitkristalle völlig herausgelöst waren.
FUKADA und YASUDA kochten ihre Präparate in Wasser und trockneten sie anschließend bei 250° C, wodurch die piezoelektrischen Eigenschaften nicht verändert wurden. FUKADA konnte ähnliche Effekte an reinem Kollagen nachweisen.
Aus den Beobachtungen zogen die Autoren im wesentlichen zwei Schlüsse:

1. Die piezoelektrischen Eigenschaften sind nicht an das Vorhandensein lebender Zellen gebunden.
2. Die Tatsache, daß der Piezoeffekt am entkalkten Knochen und ebenso am nativen Kollagen auftritt, spricht dafür, daß dieser Effekt in der kristallinen Struktur der Kollagenfibrillen begründet ist.
   Die Vermutung wird durch die Beobachtung bekräftigt, daß das Piezopotential dann sein Maximum erreicht, wenn die Scherkräfte ein Ineinanderdrehen der Kollagenfibrillen bewirken.
   Dieser Vorgang erreicht bei einem Winkel von 45° zwischen Kraftachse und Längsachse der Kollagenfasern ein Maximum.
   Besondere Beachtung verdient die Feststellung der Autoren, daß unter Druck stehende Knochenbezirke elektronegativ und unter Spannung stehende elektropositiv werden.

1962 gelangten BASSET und BECKER mit einer anderen Versuchsanordnung zu vergleichbaren Ergebnissen. Sie führten die Messungen in vivo und in vitro durch. Die Amplitude des von ihnen gemessenen Potentials war abhängig von der Größe der Belastung. Unter Druck stehende Knochenbezirke luden sich bezüglich anderer Knochenbezirke elektronegativ auf.

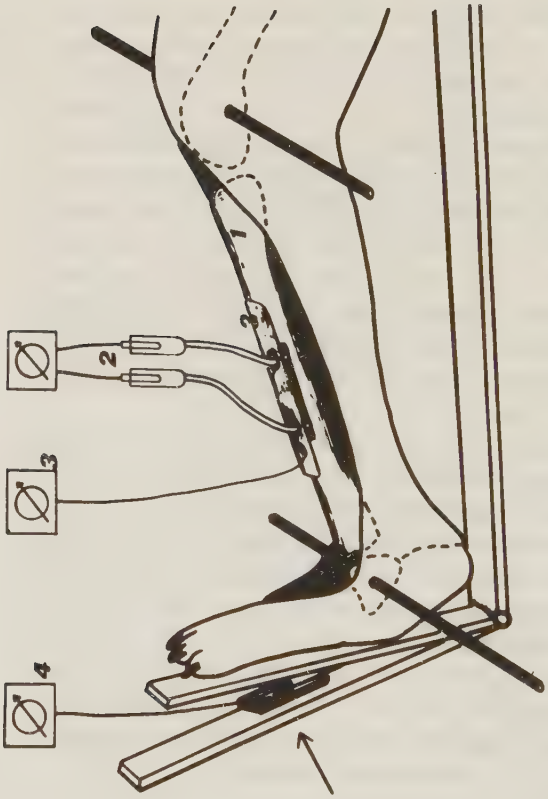
Sowohl im entkalkten als auch im enteiweißten Knochen konnten sie keine elektrischen Signale auslösen. Aus dem Potentialverlauf schlossen sie, daß diesem in seiner Aufbauphase ein Piezoeffekt zugrunde liegt. Der für einen Piezoeffekt langsame Abfall und die entgegengepolte Nachschwankung lassen nach BECKER und BASSET noch andere Mechanismen, z.B. freie Ladungsträger, vermuten.
SHAMOS, M.H., LAVINE und SHAMOS, M.I. stellten 1969 ein druckabhängiges, sich schnell aufbauendes, aber langsam abfallendes biphasisches Potential fest. Die Form des abgeleiteten Potentials ist nach ihrer Ansicht außer von den mechanischen Eigenschaften des Knochens (Relaxationsphänomen) möglicherweise auch von der Meßtechnik abhängig.

BECKER, BASSET und BACHMANN vermuten, daß mechanischer Druck in der Knochenmatrix in einen elektrischen Stimulus umgewandelt wird und die Osteogenese beeinflußt.
Nach ihrer Ansicht stellt die Knochenmatrix eine druckempfindliche PN-Diode dar, die aus der festgefügten Verbindung von Kollagenfasern (N-Material) mit Apatit-Kristallen (P-Material) besteht.
Durch mechanische Deformierung werden die in der Knochenmatrix gebundenen elektrischen Ladungen räumlich so verschoben, daß man dort, wo die Kraft einwirkt, bezüglich der Ausgangslage eine Potentialdifferenz ableiten kann.
Noch während die Verformung anhält neutralisieren freie Ladungsträger das Potential. Wird die Kraft entzogen, nehmen die gebundenen Ladungen, entsprechend den elastischen Eigenschaften des Knochens, wieder ihre Ruhepositionen ein und verdrängen die freien Ladungsträger.

Die gegenläufigen Ladungsbewegungen rufen nun ein Potential entgegengesetzter Ausrichtung hervor. Obwohl das biphasische Potential den Hin- und Rückbewegungen der gleichen gebundenen und ungebundenen Ladungen entspricht, fällt auf, daß das infolge der Belastung entstandene Potential größer ist als das nach Entlastung gemessene Signal. Davon ausgehend vermuten BECKER, BASSET und BACHMANN, daß der aus Kollagen und Apatit gebildete Halbleiter auch die für Halbleiter charakteristischen Gleichrichtereigenschaften besitzt.
SHAMOS und LAVINE hingegen meinen, daß ein klassischer Piezoeffekt die bioelektrischen Phänomene hinreichend erkläre. Nach ihrer Ansicht beweisen weder die von BECKER et al. gefundenen paramagnetischen Resonanzspektren, der Photoeffekt und die Fluoreszenz des Knochens das Vorhandensein einer druckempfindlichen PN-Diode, noch sollte man auf Grund von theoretischen Überlegungen einen Halbleiter-Gleichrichter-Mechanismus vermuten.
SHAMOS und LAVINE stellten fest, daß die mechanische Deformierung und anschließende Entlastung einer Struktur mit piezoelektrischen Eigenschaften zu einem einphasischen elektrischen Signal führt. Die von BECKER et al. und ursprünglich auch von SHAMOS und LAVINE gemessene entgegengepolte Potentialachse ist ein Kunstprodukt, das durch die Veränderung der Ableitbedingungen während der Be- und Entlastung des Knochens entsteht. Entspräche die bei Belastung entstehende Verformung der passiven Rückbewegung bei Entlastung, so entstünde ein biphasisches Signal.

FUKADA und YASUDA und SHAMOS und LAVINE et al stimmen darin überein, daß von allen organischen und anorganischen Knochenbestandteilen nur die Kollagenfasern piezoelektrische Eigenschaften besitzen.

Abb. 3 Gehsimulator zur Nachahmung der bei Bewegung auftretenden mechanischen Beanspruchung der Kaninchentibia
aus: Die Beeinflussung der knöchernen Heilung von Femur-Pseudarthrosen durch elektrischen Strom. WEIGERT, WERHAHN, MELLEROWICZ und MÜLLER, 1973, Leipzig



1) Tibia 2) Meßelektroden 3) Dehnungsmeßstreifen
4) Druckaufnahmer

Tafel: 2

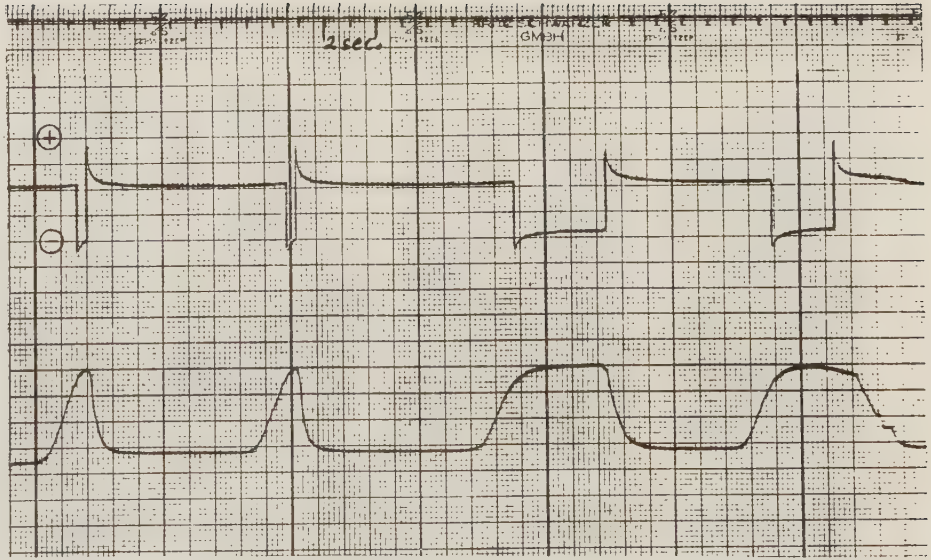
BECKER, BASSET u.a. bestätigen, daß das Kollagen im trockenen und auch im feuchten Zustand piezoelektrische Eigenschaften aufweist.
ANDERSON und ERIKSON konnten am trockenen Kollagen Piezopotentiale auslösen, am feuchten Kollagen hingegen nicht.
BECKER, BASSET u.a. neigen mehr dazu, den organischen und anorganischen Knochenbestandteilen Bedeutung bei der Entstehung von bioelektrischen Knochenpotentialen beizumessen.
Ohne die Kontroverse über den Ursprung der Knochenpotentiale beilegen zu können, bestätigten zahlreiche Autoren das Vorhandensein von belastungsabhängigen Knochenpotentialen in vitro.
COCHRAN, PAWLUK und BASSET wiesen 1968 in vivo durch Nachahmung der bei Bewegung auftretenden mechanischen Beanspruchung der Katzentibia in einem Gehsimulator die gleichen Potentiale nach, die schon aus in vitro Versuchen bekannt waren.
Mit einer anderen Versuchsanordnung kamen STEINBERG u.a. im gleichen Jahr zu ähnlichen Ergebnissen.

WEIGERT, WERHAHN, MELLEROWICZ und MÜLLER modifizierten die Versuchsanordnung von COCHRAN, PAWLUK und BASSET. Es wurde bei erwachsenen Kaninchen ein Kirschnerdraht durch den Femurcondylus und den Talus gebohrt und mit einer Fixierungsvorrichtung verbunden. Der Fuß des Tieres ruhte auf einer plantaren beweglichen Platte, die eine Druckkapsel trug (Abb. 3, Tafel: 2, S. 13). An die freigelegte Facies medialis wurde ein Dehnungsmeßstreifen montiert. Der bei Dorsalextension unter der Rußsohle auftretende Druck und die resultierende Verbiegung der Tibia wurde mit Dehnungsmeßstreifen über eine WHEATSTONE'sche Brücke gemessen. Zur Registrierung des Knochenpotentials wurden Kalomelelektroden über Agarbrücken auf die

Knochenpotential und
Druckaufnehmer
(Kaninchentibia)

Knochenpotential ≙ 2,8 mV
Elektroden in Schaftmitte lat.
⊕ proximal
⊖ distal
5 mm ≙ 5 mV

Druckaufnehmer ↑
Belastung an
5 mm ≙ 1 kg aus ↓



Tafel: 3

Abb. 4 Unter der Fußsohle bei Dorsalextension auftretender Druck- und Verformungspotential am Knochen
aus: Die Beeinflussung der knöchernen Heilung von Femur-Pseudarthrosen durch elektrischen Strom.
WEIGERT, WERHAHN, MELLEROWICZ und MÜLLER 1973, Leipzig

Belastungspotential und
Verformung des Knochens

Knochenpotential 2,8 mV
Elektroden in Schaftmitte lat.
⊕ proximal
⊖ distal
5 mm ≙ 5 mV

Verformung
Dehnung ↑
Kompression ↓

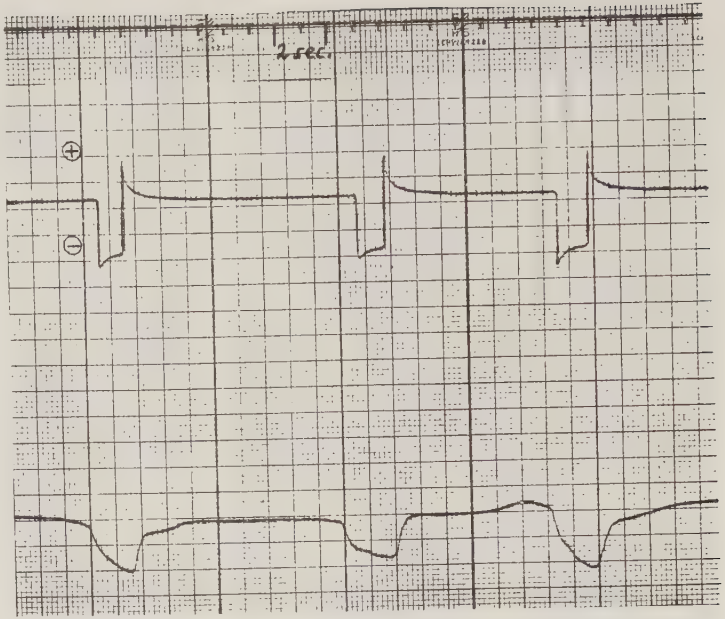


Abb. 5 Verformung des Knochens bei Dorsalextension und resultierendes Knochenpotential
aus: Die Beeinflussung der knöchernen Heilung von Femur-Pseudarthrosen durch elektrischen Strom.
WEIGERT, WERHAHN, MELLEROWICZ und MÜLLER, 1973, Leipzig

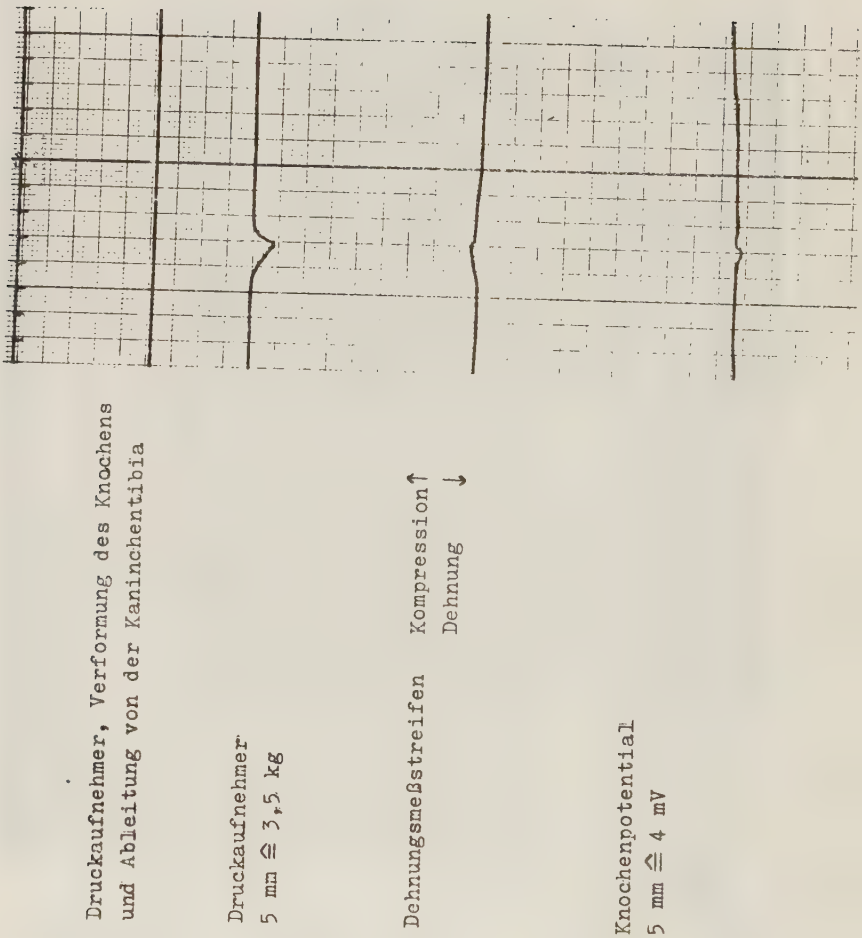


Abb. 6 Aufgewandte mechanische Kraft (Dorsalextension) führt zur kaum meßbaren Verformung des Knochens unter dem Dehnungsmeßstreifen. Kein Knochenpotential (nach WEIGERT u.a.)

Tafel: 5

unter dem Dehnungsmeßstreifen liegende Facies medialis tibia geführt.
Abb. 4, Tafel: 3, S. 14 zeigt durch mechanische Kraft erzeugte Verformungspotentiale des Knochens.
Abb. 5, Tafel: 4, S. 15 dokumentiert die Verformung des Knochens gemessen mit dem Dehnungsmeßstreifen und das resultierende Potential. Wie aus dem Ausschlag des Dehnungsmeßstreifen hervorgeht, kommt der mit Elektroden versehene Knochenbezirk durch die mechanische Kraft unter Druck. Die Kompression dieses Knochenbezirkes äußert sich in einem elektronegativen Potential.
Führte die qualitativ gleiche mechanische Kraft zu einer kaum oder nicht meßbaren Verformung des Knochens, konnte kein Potential abgeleitet werden (Abb. 6, Tafel: 5, S. 16).

Aus diesen Ergebnissen müssen folgende Schlüsse gezogen werden:

Führt die aufgewandte mechanische Kraft zu einer Verformung im Knochen, so äußert sich Letztere in einem auf der Knochenoberfläche meßbaren Potential. Kommt es nicht an der Ableitstelle, sondern in einem anderen Knochenbezirk zur Verformung, so kann man konsequenterweise keine Verformungspotentiale feststellen.

2. Permanente Gleichstrompolarisierung

a) Methode

FRIEDENBERG und BRIGHTON berichteten 1966 über eine permanente Gleichstrompolarisierung im Knochen, die im Gegensatz zu dem oben geschilderten druckabhängigen Phänomen einen lebendigen Organismus voraussetzt.

Die Messungen führten sie mit Mikroelektroden und geeigneten Elektronetern auf dem Periost, auf dem aus dem Periost herausgeschälten Knochen und auf den über dem Knochen liegenden Hautteilen an Kaninchentibien und -femora durch.

b) Ableitungen vom Tier
Ihre Messungen ergaben ein typisches Spannungsverteilungsmuster.
Sie stellten fest, daß sich die Tibiametaphyse zur Epiphyse elektronegativ verhält. Zwei bis drei Zentimeter unterhalb der Epiphyse erreichte die Elektronegativität das Maximum. Zur Diaphyse hin nimmt das Potential mit wachsender Entfernung von der Epiphyse ab und wird in Schaftmitte positiv.
Die am Knochen mit und ohne Periost gemessenen Werte konnten annähernd auf den über dem Knochen liegenden Hautteilen wiedergefunden werden.

c) Ableitung vom Menschen
Beim Menschen wurde über der Haut abgeleitet.
Die Meßergebnisse stimmten mit denen beim Tier gefundenen elektrischen Potentialen zwischen Epi-, Meta- und Diaphyse überein.

d) **Rheogene elektrische Potentiale**
Da die zellulären, molekularen und ionischen Bestandteile des Blutes und die Endothelzellen und hochmolekularen Bestandteile der Gefäßwände elektrische Eigenschaften besitzen, könnte bei der Durchblutung des Knochens ein elektrisches Potential entstehen. Dieses Durchströmungspotential wird mit der permanenten Gleichstrompolarisierung in Verbindung gebracht (DIGBY, CERQUIGLINI, CIGNITTI, MARCHETTI, SANTORO).

DIGBY konnte einen signifikanten Abfall des permanenten Potentials nach Unterbrechung der arteriellen Blutversorgung nachweisen. Die Aufhebung des venösen Rückflusses ließ das Potential ansteigen. Die mögliche Bedeutung dieses Phänomens als Stimulus muß jedoch noch durch weitere Untersuchungen bestätigt werden.

3. Frakturpotentiale

Führt die auf den Knochen einwirkende Kraft zu einer Fraktur, werden bioelektrische Phänomene nachweisbar. Die mechanische Kraft bewirkt eine Verformung, die im Knochen in ein Piezopotential umgewandelt wird, das nach der Fraktur abfällt. Durch das Trauma entsteht ein permanentes Gleichspannungs- oder Verletzungspotential.

a) Elektronevativität und Elektropositivität in Beziehung zum Knochenstoffwechsel
FRIEDENBERG und BRIGHTON heben besonders hervor, daß in elektronegativen Bezirken - also der Metaphyse - die Knochenneubildungsrate höher ist als in elektropositiven Knochenanteilen, z.B. der Diaphyse.

b) Das Knochenpotential nach Fraktur der Kaninchentibia

Ein Beweis für die Richtigkeit dieser Hypothese ist die Tatsache, daß sich nach einer Fraktur in Schaftmitte der geschädigte und dadurch zur Regeneration aufgerufene Bezirk elektronegativ auflädt.

c) Das Knochenpotential bei frakturierten menschlichen Extremitäten

Bei Hautableitungen über frakturierten menschlichen Extremitäten stellten sie eine verstärkte Elektronegativität fest. Diese Potentiale blieben bis kurz vor dem Zeitpunkt der klinischen Heilung bestehen.

FRIEDENBERG und SMITH bezweifeln jedoch, daß die Potentiale an der Haut und der unter ihr liegenden Knochenteile unbedingt übereinstimmen.

d) Die Grünholzfraktur und die sie begleitenden elektrischen Phänomene beim Frosch

BECKER und MURRAY maßen nach Grünholz an Tibiafibularis des Frosches, daß sich zwischen dem Knochen und dem durch das Frakturhämatom abgehobenem Periost ein elektrisches Feld aufbaut. Das Periost wurde elektronegativ und der Knochen elektropositiv.
In dem elektrischen Feld wurden die im Frakturhämatom gefangenen kernhaltigen Froscherythrozyten morphologisch im Sinne einer Dedifferenzierung verändert. Anschließend entstanden aus diesem Zellpol Faserknorpelzellen, die den Frakturcallus bildeten. Die Zellen verloren das Hämoglobin, die Zellform wurde länglicher, der Nucleus trat stärker hervor, cytoplasmatische Granula und Pseudopodien waren nachweisbar. Diese Zellen trugen mehr zur Bildung des Callusgewebes bei als die vom Periost und den einsprossenden Capillaren ausgehende Zellproliferation.

4. Wachstumspotentiale

a) Elektrische Polarisierung im Säulenknorpel

ATHENSTÄDT und DIGBY konnten im Säulenknorpel menschlicher und anderer Säugetierepiphysen eine elektrische Polarisierung messen.

b) Verschluß der Epiphyse und begleitende bioelektrische Phänomene

Da sich mit der Verkalkung der Epiphysen und somit mit Abschluß des Längenwachstums die elektrische Polarisierung um 180° wendet, ist zu vermuten, daß dieses Potential das Längenwachstum über ein Kontrollmechanismus (BECKER) beeinflußt.

c) Elektrische Stimulierung des Längenwachstums langer Röhrenknochen

WEIGERT stimulierte mit Stromstärken von 35 µ A innerhalb von 8 Wochen mit in die Kaninchentibia implantierten Elektroden das Längenwachstum der durchströmten Kaninchentibia um 4 mm gegenüber der Kontrolltibia (zum Problem der Angabe von Absolutstromstärken vergl. S 43).

5. Das Wolff'sche Gesetz der Transformation der Knochen

a) Das Wolff'sche Gesetz:
Belastung und Entlastung des Knochens wirken auf seine Form und Beschaffenheit. Belastete, unter vermehrtem Druck stehende Knochenbezirke werden verdichtet, unbelastete und ruhiggestellte Knochen in ihrer Substanz verringert.

b) Das Wolff'sche Gesetz verbunden mit der Halbleiter-Gleichrichter-Theorie

BASSET verknüpfte das Wolff'sche Gesetz mit den oben erwähnten Halbleiter-Gleichrichter-Eigenschaften des Knochens und formte daraus eine neue Theorie. Seiner Meinung nach beantwortet der Knochen das durch mechanischen Druck entstandene elektronegative Potential mit einer Verdichtung und Verdickung der belasteten Bezirke.
Im Sinne einer feed-back-Hemmung soll die so hervorgerufene Knochenreaktion ein neues Signal verhindern, d.h. unnötigen Knochenanbau hemmen.

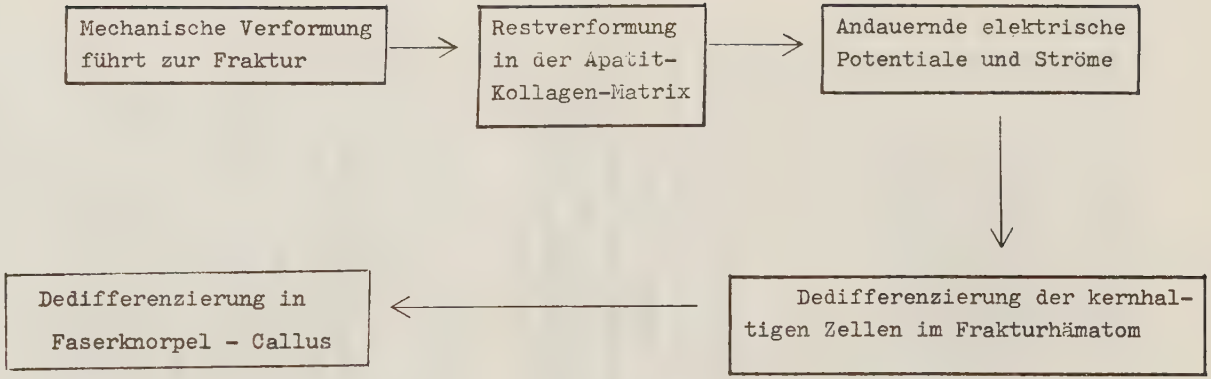


Abb. 7 Bioelektrische Phänomene und ihre Auswirkung auf die Frakturheilung beim Ochsenfrosch
(aus BECKER und MURRAY: The Electrical Control System Regulating Fracture Healing in Amphibiens,
Clin.Orthop. 169, 73, 1970

c) Die mechanische Hypothese des Knochenumbaus

JUSTUS und LUFT vermuten, daß in diesem negativen feedback-System ein mechanochemischer Effekt die Rolle des Bindegliedes spielt.
An unter Druck stehenden Hydroxylapatitkristallen sollen sich Ca-Salze aus der extrazellulären Flüssigkeit niederschlagen. Auf den verminderten Ca^{2+}Spiegel reagieren die Stammzellen des Knochens, indem sie sich über Modulation (JOHNSON 1964) oder Dedifferenzierung (DOTY 1966) in knochenbildende Zellen umwandeln. Verringert sich der Druck auf die Kristalle, gehen die Ca^{2+}Ionen wieder in Lösung. Der erhöhte Ca-Spiegel hemmt die Aktivität der Stammzellen.

d) Einfluß der bioelektrischen Potentiale auf die Fraktur beim Ochsenfrosch

Das Ineinandergreifen von biodynamischen, bioelektrischen und morphologischen Phänomenen beim Entstehen der Fraktur und ihrer Heilung, z.B. des Ochsenfrosches, zeigt das folgende von BECKER und MURRAY entworfene Schema (Abb. 7, Tafel: 6, S. 22).

6. Bisherige Versuche zur Anwendung von elektrischen Strömen auf den Knochen

a) Stimulierung der Osteogenese mit verschiedenen Stromstärken und Stromarten

YASUDA, NOGUCHI u. SATO berichteten 1955 über die Anregung der endostalen Osteogenese durch elektrischen Gleichstrom. Sie implantierten mit einer 1,5 V Hörbatterie verbundene Platin-Iridiumelektroden in die Markhöhle.

Durch Vorschaltung verschiedener Widerstände konnte der Strom variiert werden.
Ströme zwischen 1 - 10 µ A führten zur Bildung von endostalem Knochen, bis 100 µ A entstand ein knorpeliger Callus. Ströme von 1 mA zerstörten den Knochen.

BASSET, PAWLUCK und BECKER konnten 1964 mit einer ähnlichen Versuchsanordnung diese Ergebnisse bestätigen. Bei Strömen zwischen 10 - 100 µ A stellten sie an Anode und Kathode eine deutliche Aktivitätssteigerung der knochenbildenden Zellen fest. Die Kontrollseiten mit nicht durchströmten Elektroden blieben reaktionslos.

Das histologische Bild 21 Tage post operationem wurde an der Anode durch Pleomorphie der Knochenzellen gekennzeichnet. An der Kathode fand sich vermehrt Faserknochen. Osteoclasie wurde weder an der Anode noch an der Kathode beobachtet.

FRIEDENBERG und KOHANIM scheiterten, das Längenwachstum von Kaninchentibien mit Strömen zwischen 7 und 13,5 µ A zu stimulieren. An der Anode beobachteten sie bei 8 von 20 Kaninchen eine umschriebene Zerstörung des Knochens. In der Umgebung der Kathode bildete sich am Rand von vaskulärem Granulationsgewebe trabekulärer Knochen und Knorpel.
WITTEBOL führte dem Femur über einen Marknagel intermittierenden Gleichstrom (240 Pulse / min) und Wechselstrom zu. Bei allen Stromarten beobachtete er am negativen Pol periostale Knochenbildung.
Die besten Ergebnisse erzielte er jedoch mit elektrostatischer Stimulation.

HAMBURY, WATSON, SIVYER und ASHLEY bestätigten die Ergebnisse von BASSET, PAWLUCK und BECKER.

WEIGERT führte über die von YASUDA, NOGUCHI und SATA angegebene Batterieeinheit Gleichstrom an die Tibia und das Femur des Kaninchens. Es gelang, die Knochenbildung an der Kathode und in geringerem Maße an der Anode zu stimulieren.
In einer zweiten Serie erzeugte er induktiven Wechselstrom am Knochen.
Die Versuchsanordnung bestand darin, daß mit einer Sekundärspule verbundene Elektroden in den Knochen eingeführt wurden. Die Tiere bewegten sich in einem von einer Primärspule umgebenen Holzkäfig (Fläche 50 x 70 cm). Ein Transformator (50 Hz, 110 V, 4 A) speiste die Primärspule. Der resultierende Induktionsstrom betrug 5 µ A. Mit diesen Stromstößen gelang es, die Osteogenese in der Markhöhle anzuregen und Corticalisdefekte beschleunigt zum Verschluß zu bringen.

b) Anwendung von Induktionsstrom auf die Frakturheilung (WEIGERT)

Durch Kombination der Sekundärspulen mit 4-Lochdrittelrohrplatten konnte die Wirkung von Wechselstrom auf die Callusbildung bei querosteotomierten Kaninchentibien untersucht werden.
In der als Links-Rechts-Versuch durchgeführten Serie stellte sich eine um $\bar{x}$ 0,4 kg größere Belastbarkeit der Stromseite gegenüber der Leerseite heraus.

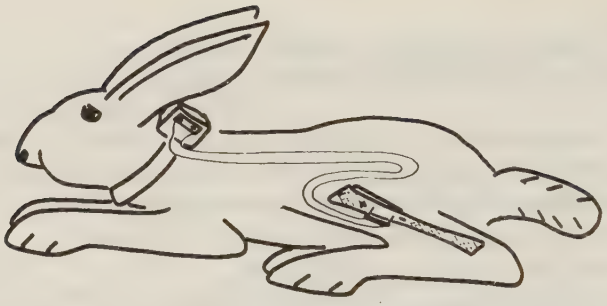
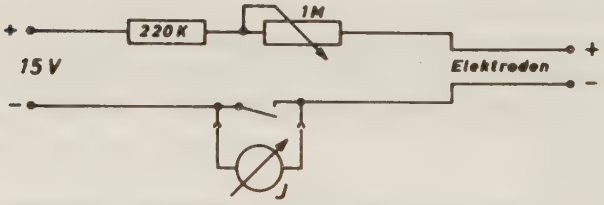


Abb. 8 Versuchsanordnung nach WEIGERT



Gleichspannungsgeber

Schaltskizze der Stromeinheit nach WEIGERT und MÜLLER

Abb. 9 Schaltbild der Stromeinheit
I5 Volt Batterie mit Vorwiderstand 220 kΩ
und Potentiometer 1 MΩ . Zur Messung wird das
Amperemeter in den Stromkreis eingeschaltet.

Tafel: 7

c) Nachteile der bisher verwandten Spannungsgeber

Da einerseits bei dem Induktionsverfahren abhängig von Lage und Bewegung des Tieres beträchtliche Stromschwankungen auftreten und andererseits bei der Batterieeinheit der Spannungsabfall weder kontrolliert noch nachreguliert werden kann, präzisierten WEIGERT und MÜLLER die Methode.

d) Gleichstromeinheit nach WEIGERT und MÜLLER

Sie entwickelten ein Verfahren, mit dem über Platin-Iridiumelektroden und subkutan verlaufende kunststoffisolierte Litzen Strom definierter und regulierbarer Größe an den Knochen geführt werden konnte. Die freien Enden der Litzen wurden mit einer Gleichstromeinheit verbunden, die am Rücken des Tieres zwischen den Schulterblättern festgeschnallt wird (Abb. 8, Tafel: 7, S. 26). Die Dimensionierung der Einheit erfolgte unter Berücksichtigung des Knochenwiderstandes (Knochen 14 kΩ/cm nicht Ohm'sches Verhalten), so daß Ströme zwischen 1 - 50 μ A eingestellt und bei täglichen Messungen stufenlos nachreguliert werden konnten (Abb. 9, Tafel: 7, S. 26).
Die Stromeinheit wird von einer 15 Volt-Batterie gespeist. Der Vorwiderstand, der mit einem Potentiometer (0 - 1 MΩ) ausgestatteten Batterieeinheit beträgt 220 kΩ. Widerstandsänderungen zwischen den zuführenden Elektroden im Knochen wirken sich deshalb nur gering auf den Stromfluß aus.

e) Die Frakturheilung unter dem Einfluß von Gleichstrom und alternierendem Gleichstrom (WEIGERT)

Im Anschluß an die Querosteotomie der Kaninchentibia wurden beide Fragmente mit einer Osteosyntheseplatte fixiert.
Mit der oben beschriebenen Gleichstromeinheit konnte bei der Anordnung von Kathode und Anode zu beiden

Seiten des Bruchspaltes bei Strömen von 5 - 20 µ A eine Beschleunigung der Osteotomieheilung in 71 bzw. 80% der Fälle nachgewiesen werden.

Tabelle 1:
Ergebnisse bei zu beiden Seiten des Spaltes angeordneten Elektroden mit Gleichstrom. Zur Prüfung der Belastbarkeit wurden die Tibien in Höhe der Osteotomie einer kontinuierlich ansteigenden, schließlich zur Fraktur führenden Querbelastung ausgesetzt.

Strom	Mehrbelastbarkeit auf der Stromseite	Seitengleiche Belastbarkeit	Mehrbelastbarkeit auf der Leerseite
5-10 µ A	80% m - 2,3 kp		20% m - 2,5 kp
5-15 µ A	71% m - 2,0 kp	44,5%	14,5% m - 1,5 kp
20 µ A	44,5% m - 1,2 kp	11,0%	44,5% m - 2,7 kp

Der Mittelwert der Mehrbelastbarkeit der Stromseite lag bei 2 kp. Bei Strömen über 20 µ A konnte keine Beschleunigung erzielt werden.

Um die bei Belastung auftretenden Potentiale nachzuahmen, wurde eine Stromeinheit entwickelt, die alternierende Gleichstromsignale der Frequenz von 1 Hz liefert. Mit dieser Form der Stimulierung des Elektrocallus konnte in 90% der Fälle eine Beschleunigung erreicht werden. Die Mehrbelastbarkeit der Stromseite betrug 1,1 kp.

Tabelle 2:
Ergebnisse bei zu beiden Seiten des Spaltes angeordneten Elektroden mit pulsierendem Gleichstrom

Strom	Mehrbelastbarkeit auf der Stromseite	Seitengleiche Belastbarkeit	Mehrbelastbarkeit auf der Leerseite
10-20 µ A	90% m - 1,1 kp	10%	

LEVY und RUBIN konnten 1972 mit alternierendem Gleichstrom die Knochenbildung stärker beeinflussen als mit Gleichstrom. Die von ihnen angewandten Stromstärken bei alternierenden Strömen variierten zwischen 0,2 und 1,5 µ A, die Frequenzen zwischen 1300 und 0,4 Hertz.

f) Der zeitliche Ablauf der endostalen Knochenbildung durch Gleichstrom

E. GÖHRE untersuchte den zeitlichen Ablauf der endostalen Knochenbildung in der Tibia bei einem Strom von 35 µ A. Versuchsanordnung schematisch, s. Abb. 9, Tafel: 7, S. 26.
In der ersten Phase (1. - 6. Tag) der Stromeinwirkung fand sich an der Anode eine erhebliche Rundzellproliferation, an der Kathode überwogen Fibroblasten. Um den neunten Tag entstanden um die Anode Nekrosen und wenig endostale Spongiosa. An der Kathode hatte das Endost einen Spongiosasaum gebildet. Im Markraum hatten sich die kollagenen Fasern vermehrt. Röntgenologisch war an der Anode eine umschriebene Osteolyse und eine geringe Verdichtung der inneren Corticalis zu erkennen.
Nach 12 Tagen hatte sich an der Anode der randständige Spongiosasaum vergrößert. Gleichzeitig näherte sich die zentral im Markraum befindliche Nekrose der neugebildeten Spongiosa. An der negativen Elektrode wurde eine Zunahme und Verdichtung der Spongiosa festgestellt. Fluoreszenzmikroskopisch ließ die beginnende Verkalkung Spongiosa nachweisen.
Um den 18. Tag fiel die randständige Spongiosa immer mehr der Nekrose anheim (Anode).
An der Kathode hatte die Spongiosa so zugenommen, daß sie die Markhöhle bis zu zwei Drittel ausfüllte.

Nach 21 Tagen hatte die Nekrose an der Anode so zugenommen, daß sie makroskopisch an der Schwärzung des Knochens zu erkennen war. An der Kathode füllte eine zellreiche Spongiosa die Markhöhle völlig aus.
Zur Kontrolle wurden in die contralaterale Tibia in gleichem Abstand nicht durchströmte Elektroden implantiert. In allen Fällen zeigte sich normales Knochenmark mit Retikulum und Fettzellen ohne Nekrose und Spongiosa.
1972 teilten RICHEZ, CHAMAY und BIELER mit, daß mit alternierendem Gleichstrom verschiedener Frequenzen selbst Ströme um 250 µ A nicht zu Nekrosen an der Anode führen.
Bei 250 µ A und einer Impulsdauer von einer Sekunde, an die sich eine neun Sekunden dauernde Unterbrechung des Stromflusses anschloß, war die Knochenneubildungsrate geringer als bei 50 µ A einer Sekunde Impulsdauer und einer Sekunde Pause.

g) Der Einfluß von Gleichstrom auf die Heilung von:

α) Corticalisdefekten
β) Fibulafrakturen und Tibiaosteotomien
γ) Pseudarthrosen, Querosteotomien

α) PAWLUCK und BASSET untersuchten (1970) wie Anode und Kathode auf die Heilung von definierten Corticalisdefekten wirken.
Bei Stromstärken zwischen 3 - 4 µ A füllten sich unter Kathodenwirkung die Defekte vollständig mit jungen Faserknochen auf. Unter Anodenwirkung und bei Leerelektroden konnte dieser Effekt nicht beobachtet werden.
1971 teilten LAVINE, LUSTRIN, M.H. SHAMOS und MOSS mit, daß es ihnen gelungen sei,

die Heilung eines definierten Defekts in Kaninchenfemura bei 2,5 - 3,5 µ A Gleichstrom um den Faktor 2 zu beschleunigen. Die Kontrollen führten sie an einem anderen Kollektiv von Kaninchen durch.

FRIEDENBERG, ROBERTS, DIDIZIAN und BRIGHTON versorgten die frakturierten Kaninchenfibula mit verschieden angeordneten Elektroden. Als Spannungsquelle diente eine 1,5 V Hörbatterie. Der Strom konnte über zur Haut geleitete Kontakte gemessen werden. Sie erzielten nur dann eine Mehrbelastbarkeit der durchströmten Fibula, wenn die Kathode über ein Bohrloch durch die Corticalis in die Markhöhle eingeführt wurde und in der Markhöhle den Bruchspalt überquerte. Die Anode wurde in einer dafür hergestellten Muskeltasche verankert. Der Strom betrug 10 µ A.

WEIGERT, WERHAHN, BANDOW und MELLEROWICZ fixierten Osteotomien an Kaninchentibien mit Methylacrylatplatten. Die Kathode lag über dem Bruchspalt in der Markhöhle, die Anode im Muskel. Mit dieser Anordnung ließ sich bei 10 µ A Gleichstrom eine deutliche Beschleunigung der Knochenbruchheilung erzielen.

1971 berichteten WEIGERT, WERHAHN und VENOHR über die Anwendung von elektrischem Gleichstrom bei Pseudarthrosen von Kaninchentibien. Um die Wirkung von verschiedenen Strömen auf die knöcherne Heilung bei verzögerter Callusbildung zu untersuchen, wurden im Bruchspalt Dehiszenzen durch Interponate aus Kunststoff, Silber- oder Kollagenmembranen erzeugt. 14 Tage post operationem wurden die Interponate entfernt und der Strom eingeschaltet.

Neben röntgenologischer Kontrolle wurde die Mineralisierung durch Strontium 85 m Szintigraphie beobachtet. Dabei konnte eine positive Beeinflussung der Callusbildung auf der durchströmten Seite nachgewiesen werden.
5 - 6 Wochen post operationem wurden Strom- und Leerseite einer Querbelastung bis zum Durchbrechen unterzogen.
Die Auswertung ergab ein deutliches Plus an Festigkeit (um 50% größere Belastbarkeit) der durchströmten Seite gegenüber der Leerseite.

WEIGERT, WERHAHN und MÜLLER erzeugten seitengleiche Osteotomien an beiden Tibien bzw. Speichen und Ellen von Schafen. Über drei verschiedene Elektrodenanordnungen wurden Ströme zwischen 8 und 15 µ A zugeführt. In der ersten Serie wurden die Kathode ringförmig um den Osteotomiespalt gelegt. Die Anode war in die Markhöhle quer über den Bruchspalt implantiert. In allen Fällen wurde eine ausgeprägte periostale Knochenwucherung beobachtet.
Bei der Prüfung der Belastbarkeit wurden auf der Leerseite höhere Werte erzielt.

Tabelle 3:

Ergebnisse bei Gruppe I. Ringförmige Kathode um den Osteotomiespalt. Anode quer durch die Markhöhle in Höhe des Osteotomiespalts. Gleichstrom 15 µ A. Osteosynthese mit Kunststoffplatte.

Nr.	Alter Jahre	Strom	Belastbarkeit in kp Stromseite	Leerseite	Differenz
14	1 1/2	15 µ A	22,0	35,0	- 13,0
15	1 3/4	15 µ A	35,0	40,0	- 5,0
18	1	15 µ A	5,0	31,0	- 26,0

Wurden beidseits des Bruchspalts Elektroden in den Markraum eingeführt, konnte die knöcherne Durchbauung signifikant beschleunigt werden.

Tabelle: 4

Ergebnisse bei Gruppe II. Elektroden zu beiden Seiten des Osteotomiespalts. Gleichstrom zwischen 7 und 10 µ A. Osteosynthese mit Metallplatten.

Nr.	Alter Jahre	Strom	Belastbarkeit in kp Stromseite	Leerseite	Differenz
2	1	10 µ A	73,0	51,0	+ 22,0
3	3/4	7 µ A	31,5	15,0	+ 16,5
4	1	10 µ A	38,0	11,0	+ 27,0
5	1 1/2	8 µ A	28,0	38,0	- 10,0

In der dritten Serie konnte die periostale Callusbildung dadurch, daß die Osteosyntheseplatte als Kathode geschaltet wurde, besonders gefördert werden.

Tabelle: 5

Ergebnisse der Gruppe III. Osteosyntheseplatte negativ, Anode distal vom Spalt. Gleichstrom von 10 µ A. Osteosynthese mit Metallplatte.

Nr.	Alter Jahre	Strom	Belastbarkeit in kp Stromseite	Leerseite	Differenz
7	1 1/2	10 µ A	38,0	27,0	+ 11,0
11	3	10 µ A	30,0	6,0	+ 24,0
13	2	10 µ A	35,0	28,0	+ 7,0

h) Knochenbildung und Sauerstoffverbrauch

BRIGHTON, FRIEDENBERG und BLACK bringen die von mehreren Arbeitsgruppen beobachtete Stimulierung der Osteogenese durch Gleichstrom in Beziehung zur Sauerstoffkonzentration. Ihrer Meinung nach verlieren mit steigender negativer Spannung Gewebsflüssigkeiten zunehmend die Fähigkeit, gelösten Sauerstoff zurückzuhalten.
In der erniedrigten Sauerstoffkonzentration metabolieren die Knorpel- und Knochenzellen das vorhandene Glykogen anaerob. Sind die Vorräte erschöpft, müssen die Zellen Ca-Ionen an die Umgebung abgeben. Die freigewordenen Ca-Ionen leiten die Mineralisierung der Matrix ein.

i) Messung der Knochenpotentiale bei Elektrostimulation

WEIGERT, WERHAHN, BANDOW und MELLEROWICZ berichteten 1972 über Knochenpotentiale bei Elektrostimulation (Abb. 11, Tafel: 9, S. 39, schematische Darstellung des Meßvorgangs). Die Messungen bestätigten, daß an der Oberfläche der Kaninchentibia in vivo eine elektrische Gleichstrompolarisierung besteht. Die Spannungen liegen zwischen 1 und 15 mV. Die proximale Metaphyse verhält sich elektronegativ zur Diaphyse. Nach Osteotomie in Schaftmitte und anschließender Osteosynthese mit Metall- oder Kunststoffplatte verändert sich die Potentialdifferenz nur um wenige Millivolt. Dabei liegt die Spannungsdifferenz bei Fixierung mit Metallosteosyntheseplatte um 2 mV höher als mit Kunststoffosteosyntheseplatte. Werden Elektroden zu beiden Seiten des Osteotomiespalts in den Knochen implantiert (Anode proximal, Kathode distal) und ein zusätzliches Potential durch die äußere Stromquelle am Knochen erzeugt, so wird der Osteotomiebereich gegenüber der proximalen Metaphyse elektronegativ. Bei Strömen

zwischen 5 und 10 µ A liegen die resultierenden Spannungsveränderungen unter 20 mV.
Die Potentialdifferenz ist über den beiden Elektroden am größten. Über der Anode erreicht das elektropositive und über der Kathode das elektronegative Potential den Maximalwert. Das Potential verteilt sich gleichmäßig über den Osteotomiespalt. Durch Annäherung der Kathode an den Osteotomiespalt bei Verankerung der Anode im Abstand von ca. 15 mm proximal der Fraktur erreicht man einerseits schon bei Strömen um 5 µ A die gewünschte Elektronegativität. Ein weiterer Vorteil dieses Verfahrens besteht darin, daß die im Knochen zum Teil regressive Veränderungen hervorrufende Anode an der Osteotomie weitgehend unwirksam wird.

j) Stimulierung der Callusbildung beim Menschen

Einige Arbeitsgruppen haben ihre Methoden auf den Menschen übertragen. Uns liegen Publikationen von CIESZYNSKI, JØRGENSEN, KRAUS und LECHNER, FRIEDENBERG, HARLOW und BRIGHTON und LAVINE, LUSTRIN, SHAMOS, RINALDI und LIBOFF vor.

1964 berichtete CIESZYNSKI als erster über die Beschleunigung der knöchernen Heilung bei verzögerter Callusbildung und Pseudarthrosen durch Hautelektroden.

JØRGENSEN fixierte Unterschenkelfrakturen im Hoffmann schen Apparat. Die beidseits des Bruchspalts befindlichen Schrauben schaltete er als Elektroden. Er wandte Ströme zwischen 20 - 100 µ A Gleichstrom an. Dem Gleichstrom wurde ein Wechselstrom der Frequenz 1 Hz mit der Amplitudenspitze 500 µ A überlagert.
KRAUS und LECHNER beobachteten eine Stimulierung der Callusbildung durch Anwendung von Induktionsstrom (WEIGERT).

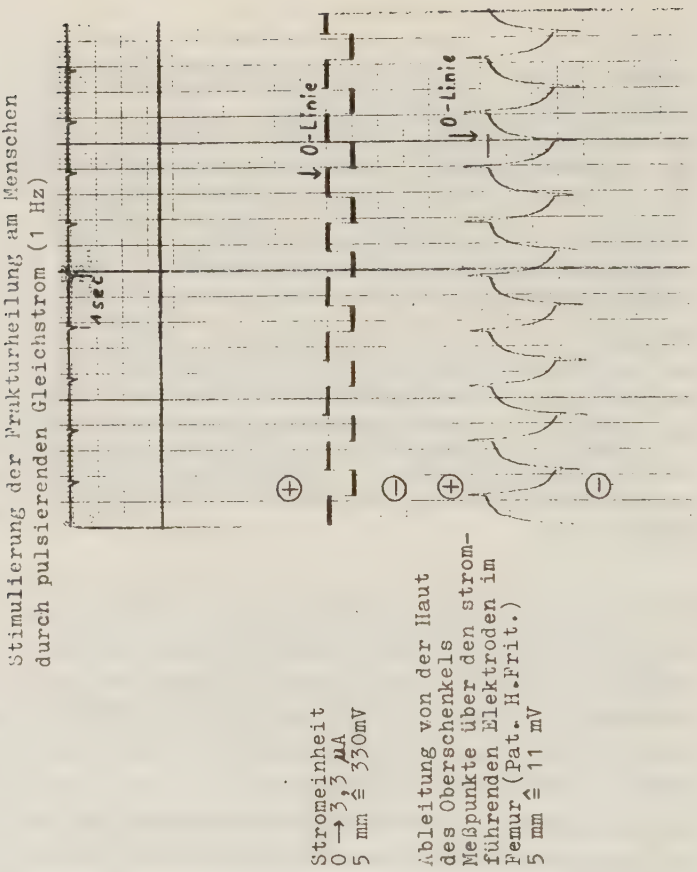


Abb. 10 Ableitung der zugeführten pulsierenden Gleichstromsignale von der Oberschenkelhaut aus: Die Beeinflussung der knöchernen Heilung von Femur-Pseudarthrosen durch elektrischen Strom. WEIGERT, WERHAHN, MELLEROWICZ und MÜLLER, 1973, Leipzig

Die amerikanischen Autoren erreichten mit Strömen bis zu 10 µ A Gleichstrom die knöcherne Heilung von Pseudarthrosen.
WEIGERT und Mitarbeiter überblicken die klinische Erprobung anhand von Fibulaosteotomien, Femurosteotomien und Femurpseudarthrosen.
In der ersten Phase wird ein Gleichstrom von 5 bis 8 µ A zugeführt. Setzt die Callusbildung einige Wochen post operationem ein, beginnt die Durchströmung mit pulsierendem Gleichstrom der Frequenz von 1 Hz.

Abb. 10, Tafel 8, S. 36 zeigt, wie die von der Stromeinheit erzeugten Potentiale synchron über den stromzuführenden Elektroden auf der Haut abgeleitet werden. Durch langsam pulsierende, die physiologischen Druckpotentiale nachahmende Stromformen soll der Umbau des Callusgewebes in lamelläre Knochen stimuliert werden.

Experimentelle Untersuchung

1. Problemstellung

Die vorliegende Arbeit hat zum Ziel, die primär angiogene Knochenheilung unter dem Einfluß von elektrischem Gleichstrom an osteotomierten Kaninchentibien zu untersuchen.
Der Verlauf der primären Osteotomieheilung wurde im Rechts-Links-Versuch anhand röntgenologischer, histologischer und mikroangiographischer Methoden untersucht.
Mit Hilfe von Fluochromen wurde die Knochenneubildung markiert.
Weiterhin wurden die Präparate im polarisierten und phasenverschobenen Licht untersucht.
Die morphologischen Vorgänge wurden mit einem Meßverfahren quantitativ bestimmt.

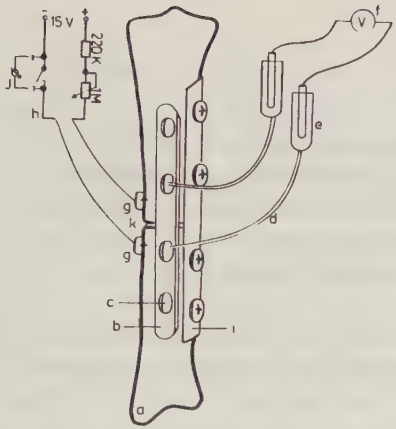


Abb. 11 Messung der Oberflächenpotentiale nach Osteotomie und Osteosynthese an der Kaninchentibia, Stimulierung mit Gleichstrom
a) Tibia, b) Meßschablone, c) Meßbrünnchen 1—4, d) Meßbrücken (Ringer-Agar), e) Kalomel-Elektroden, f) Oszilloskop, g) zuführende Elektroden, h) Batterieeinheit, i) Osteosyntheseplatte, j) Ampèremeter, k) Osteotomie
aus: Knochenpotentiale bei elektrischer Stimulation. M.WEIGERT, C.WERHAHN, R.BANDOW, M.MELLEROWICZ, Z.Orthop. 111, 778 (1973)

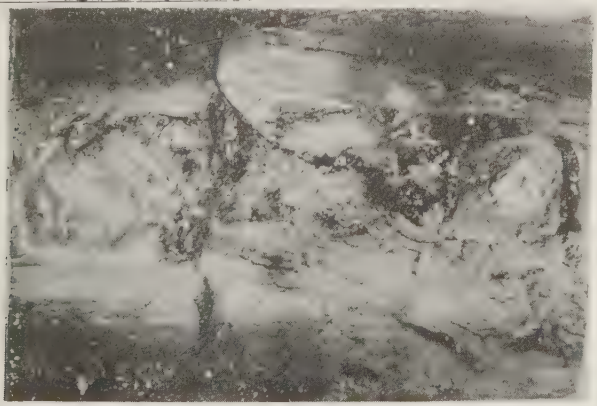


Abb. 12 Versuchstier Nr. 541, Stromseite, Mikroangiogramm nach Spalteholz-Technik, 3,5-fach. Zustand 49 Tage post operationem. Durch den klaffenden Bruchspalt sind periostale Gefäße in die Markhöhle eingewachsen, wo sie mit Markraumgefäßen anastomosieren. Nr. 541 wurde wegen unzureichender Adaptation der Fragmentenden nicht ausgewertet.

Tafel: 9

2. Versuchstiere

Die Untersuchung wurde an 46 mischrassigen Kaninchen beiderlei Geschlechts durchgeführt. Die Tiere wogen bei Versuchsbeginn im Durchschnitt 1500 g, waren 18 - 25 Monate alt, die Epiphysenfugen waren noch nicht geschlossen.

Die Kaninchen wurden in Einzelkäfigen gehalten und mit Kaninchenpellets (Kaninkorn Zitrig, Herst. Kraftfutterwert Bln. 20) und Wasser ernährt.

3. Methoden

a) Versuchsanordnung

Beide Tibien wurden seitengleich osteotomiert und anschließend mit einer belastungsstabilen Osteosynthese versorgt.

Unter diesen Umständen ist zu erwarten, daß ceteris paribus die beiden Osteotomien nach einer gewissen Zeit knöchern heilen. Nur ein Rechts-Links-Vergleich an einem Individuum ermöglicht quantitative Aussagen über den Zustand der Frakturheilung.

Die Elektroden wurden aus 15 mm langen Platin-Iridiumdrähten (10% Iridium, 90% Platin, Ø 0,7 mm) gefertigt, an deren Enden eine verzinnte Kupferlitze gelötet wurde. Diese Litze ist mit einem strahlungsvernetzten Polyalken isoliert und besitzt darüber einen Primärmantel aus strahlungsvernetztem Polyvinylidenfluorid, der Außendurchmesser beträgt 0,69 mm (Hersteller Raychem, München). Die Lötstellen wurden mit Methylacrylat isoliert.

b) Beschreibung der Operation

Das Kaninchen wird in Rückenlage mit gestreckten Extremitäten auf dem Operationstisch festgeschnallt. Das Unterschenkelfell wird mit einer Schere kurzgeschoren, anschließend wird der Unterschenkel mit einer Enthaarungscreme enthaart und mit einem feuchten Schwamm abgewaschen. Danach erfolgt die Hautdesinfektion mit Merfen.
Zur Narkose wird Thalamonal, nach Wirkung i.m. gespritzt. Steriles Abdecken mit Schlitztüchern und Tuchklemmen.
Der Hautschnitt wird entlang der Margo medialis tibiae bis zum Condylus lateralis femoris gelegt. Ablösen der Muskulatur und Umfahren der Tibia in Schaftmitte am Ansatz der Fibula mit einer runden Kochersonde. Das Periost wird dabei erhalten. Nun wird eine 4-Loch-Drittelrohrplatte der Schweizer AO oder die selbstspannende Methylacrylatplatte mit einem Stahldrahtkern an die Facies lateralis tibiae geschraubt. Die Bohrlöcher in der proximalen Hälfte der Platte werden am proximalen Rand der ovalen Löcher und in der distalen Hälfte der Platte am distalen Rand der ovalen Löcher gebohrt. Wir achten besonders darauf, daß die Achse des Bohrkanals senkrecht zur Platte und zum Schaft steht. Da der Gewindeschneider im proximalen Loch in situ belassen wird, kann die zweite Bohrung im distalen Plattenloch parallel zur Richtung des ersten Gewindeschneiders erfolgen. Nach dem Eindrehen des zweiten Gewindeschneiders ist die Osteosyntheseplatte am Knochen fixiert. Die weiteren Bohrungen werden zwischen den beiden Gewindeschneidern und parallel zu denselben durchgeführt.

Nach Entfernung der Osteosyntheseplatte wird in der Mitte zwischen den beiden zuletzt gebohrten Löchern die spätere Osteotomiestelle markiert. Die Gewinde werden fertig geschnitten, dann erfolgt die Querosteotomie der Tibia senkrecht zum Schaft. Hierfür wird eine Laubsäge mit einem Sägeblatt der Stärke 0 (0,1 cm) gewählt. Das Durchtrennen mit einer Laubsäge führt nur zu geringer Erwärmung des Knochens und der Osteotomiespalt bleibt schmal.
Nach der Osteotomie wird die Osteosyntheseplatte wieder angeschraubt. Durch vollständiges Eindrehen der 2,5 mm Ø AO Corticalisschrauben in die ovalen Löcher werden die Fragmentenden einander genähert und kommen schließlich unter Druck. Danach werden mit einem Uhrmacherdrillbohrer zwei Bohrlöcher Ø 0,7 cm proximal und distal der Osteotomie gebohrt, in den die oben beschriebenen Elektroden versenkt werden. Die Kathode wird 0,4 cm distal, die Anode 0,6 cm proximal der Osteotomie durch die beschriebenen Bohrlöcher in den Knochen eingeführt. Die freien Enden der beiden Litzen werden mit Hilfe einer V 2 A Stahlstange subcutan bis zwischen beide Schulterblätter hochgeführt und durch die Haut gestoßen. Die Wunde wird in 2 Schichten mit fortlaufender Naht geschlossen, Nobecutan-Spray, kein Verband.

Der in einem Aluminiumkästchen untergebrachte Gleichspannungsgeber (Abb. 8 u. 9, Tafel: 7, S. 26) wird mit einem aus kräftigem Gurtband gebildeten Rucksack, der Hals und Brustkorb kreuzweise umfaßt, auf dem Rücken des Kaninchens befestigt. Durch eine Öffnung werden die Enden der Litze in das Kästchen geleitet und mit dem Gleichspannungsgeber verbunden. Der Strom wird an einem Mikroampèremeter eingestellt, täglich kontrolliert und wenn nötig nachreguliert.

Auf der anderen Seite werden Leerelektroden eingeführt. Die Tiere stehen nach der Operation auf und laufen herum.

c) Strom und Elektrodenanordnung

Spannungsquelle und Elektroden müssen so gewählt werden, daß der außerhalb des Tieres zu messende Strom dem Stromzufluß im Knochen entspricht. Die experimentellen Erfahrungen von WEIGERT und WEIGERT u.a. haben gezeigt, daß Ströme bis maximal 20 µ A in Verbindung mit bestimmten Elektrodenanordnungen die Frakturheilung zu beschleunigen vermögen. Von Bedeutung für die Wirkung bei diesen Strömen ist die räumliche Anordnung von Kathode und Anode zum Bruchspalt.
In der unter 6.g) geschilderten Versuchsanordnung (ringförmige Kathode um den Osteotomiespalt, Anode quer durch die Markhöhle (5 µ A Gleichstrom)) konnte keine Beschleunigung erzielt werden. Das wichtigste Kennzeichen aller Elektrodenanordnungen, die zu einer Beschleunigung der knöchernen Heilung führten, ist, daß die Anode möglichst weit von der Osteotomiestelle entfernt liegt.
Um die dem elektrischen Strom zugeordneten Effekte auf den Knochenstoffwechsel weiter analysieren zu können, wären Messungen der elektrischen Feldstärke und der Stromverteilung bei elektrischer Stimulation von Interesse. Die hierzu erforderlichen Meßreihen stehen z.Zt. noch aus.

Der Dimensionierung unseres Spannungsgebers lagen die Messung des Knochenwiderstandes (R Kn - 14 KΩ/cm nicht Ohmsches Verhalten) und die bei verschiedenen Stromstärken auf der Knochenoberfläche zwischen zwei Ableitpunkten zu messende Spannungsdifferenzen zu Grunde. In den vorliegenden Versuchen beträgt bei 5 µ A Gleichstrom die Potentialdifferenz, gemessen auf der Facies medialis Tibia, zwischen der 0,5 cm proximal des Osteotomiespaltes gelegenen positiven Meßelektrode und 0,5 cm distal des Osteotomiespaltes gelegenen negativen Meßelektrode ca. - 15 mV.

Neben der Stromstärke und Elektrodenanordnung spielt die Stromart eine wichtige Rolle. So scheint der Wirkungsgrad von Gleichstrom und langsam alternierendem Gleichstrom nach den bisherigen Ergebnissen nahezu gleich groß zu sein. Hingegem führen Wechselstrom von 50 Hz nach WEIGERT nur zu Belastbarkeitsunterschieden, die etwas über der Fehlerbreite der Operationsmethode liegen. Die Messungen von Knochenoberflächenpotentialen bei Elektrostimulation (6.i)) ergeben, daß bei Implantation der Anode 7 mm proximal der Osteotomie und der Kathode 4 mm distal des Frakturspaltes, die knöcherne Heilung durch die Kathodenwirkung beschleunigt werden kann.

Dies wurde durch die Belastbarkeitsprüfung bei dieser Elektrodenanordnung bestätigt. Bei den weiter zu beschreibenden Versuchen wurden mit dieser Elektrodenanordnung Ströme um 5 µA ($\pm$ 1 µA) zugeführt.

d) Knochenmarkierung mit Fluochromen

Um die Mineralisierungsvorgänge im Knochen zeitlich beobachten zu können, wurde eine zweifache Markierung mit Oxytetracyclin (Terravenös Pfizer)++ und Alizarin Komplexon (Fluka AG Ch.) durchgeführt. 1956 entdeckte ANDRÉ, daß sich Tetracyclin im Knochengewebe anreichert und dort nachweisbar bleibt, auch wenn es aus anderen Geweben längst verschwunden ist.

++ Terravenös wurde freundlicherweise zum Teil von der Fa. Pfizer zur Verfügung gestellt.

MILCH konnte 1958 nachweisen, daß Knochenbezirke mit hoher Anbaurate wesentlich mehr Tetracyclin aufnehmen als reifer Knochen. Seiner Meinung nach reagiert das Tetracyclin mit dem Calcium und den Mucopolysachariden der Matrix.
BEVELANDER gibt an, daß die Tetracycline mit Ca und Mg Chelate bilden und daß diese komplexe Verbindung bei der Mineralisierung der Matrix eingelagert wird.
FORST, ROTH und STANISALJEVIC stellten fest, daß nach Entkalkung des Knochens die tetracycline Fluoreszenz nicht mehr nachzuweisen ist.
MÜNZENBERG und GEBHARD vermuten, daß Tetracycline mit dem Knochenmineral kompetitiv um den Einbau in das mineralisationsfähige Gerüsteiweiß konkurrieren. Tetracyclinfluoreszenzen im Knochen zeigt demnach nur mineralisationsfähiges Kollagen, nicht aber vorhandenes Calcium an.
Durch Vergleich der Tetracyclinfluoreszenz und Ca^{45} Autoradiographie konnten HARRIS, JACKSON und JOWSY nachweisen, daß sich die Tetracycline in den Verkalkungszonen des Knochengewebes ablagern.

RAHN und PERREN geben an, daß sich Alizarin-Komplexon in verkalkendem Knochengewebe einlagert. Gegenüber anderen für den Tierversuch geeigneten Fluochromen (Haematoporphyrin und Alizarin Rot S) hat es den Vorteil, besser verträglich zu sein und intensiv zu fluoreszieren. Alizarin-Komplexon ist schon im Hellfeld zu erkennen. Obwohl der Einbaumechanismus von Tetracyclin und Alizarin-Komplexon nicht endgültig geklärt ist, sind diese Fluochrome dort nachzuweisen, wo Knochen zur Zeit der Applikation gebildet wird. Nach Applikation von Tetracyclin sieht man um ein quergetroffenes Haver'sches System eine gelb aufleuchtende Bande.

Wird in einem zeitlichen Abstand ein zweites Fluochrom zugeführt, so erkennt man bei Verwendung von Alizarin-Komplexon eine räumlich getrennte und tiefrote Bande. Die einzelnen Bälkchen sind im spongiösen Knochengewebe je nach Breite des gebildeten Osteoids mit entsprechenden Banden umgeben. Bei der primär angiogenen Frakturheilung kann man die Verkalkungszonen bei mehrzeitiger Markierung nur mit verschiedenfarbenen fluoreszierenden Substanzen unterscheiden.

Oxytetracyclin: Dosis 50 mg/Körpergewicht (kg) i.v.

Alizarin-Komplexon: Dosis 30 mg/Körpergewicht als 3%ige Lösung in 2% $NaHCO_3$ i.v. (RAHN).

Beide Substanzen wurden außerdem zur besseren Verträglichkeit im Verhältnis 1 : 3 mit 0,9% NaCl-Lösung verdünnt und sehr langsam in die Ohrrandvene injiziert.

Nach der Tetracyclin-Injektion beobachteten wir für einen Tag eine Harnflut, nach Alizarin-Komplexon verfärbte sich der Harn für mehrere Tage dunkelrot. Die Einlagerung von Alizarin-Komplexon war makroskopisch am Knochen zu erkennen. Besonders deutliche Rotfärbung konnte um den Osteotomiespalt, die Osteotomieplatte und in spongiösen Bezirken beobachtet werden.

Markierung mit Fluochromen - Tabelle 6

Versuchs-tier	Versuchs-dauer Tage	Oxyte-tracy-clin 50mg/kg Tag post op.	Oxyte-tracy-clin 50mg/kg Tag post op.	Alizarin-Komplexon 30mg/kg Tag post op.	Tötung des Tie-res Tag post op.
495	77	6	72		77
528	64	6	60		64
543	68	6		68	68 post inj.
549	68	6		68	68 post inj.
554	72	7		68	72
563	57	6		54	57
566	50	5		47	50
455	48	4	45		48
581	45	4		40	45
580	45	6		40	45
547	40	5		37	40
558	34	3		32	34
561	32	4		28	32

Die Injektion von Tetracyclin erfolgte am 5. post operativen Tag und die von Alizarin-Komplexon zwischen dem 1. und 5. Tag vor Tötung des Tieres.

Markierungszeiträume siehe Tabelle 6.

e) Gefäßdarstellung

Zur Gefäßdarstellung wurden die Tiere in Narkose (Thalamonal i.m.) in Rückenlage auf dem Operationstisch festgebunden. Nach Laparotomie wurden die Aorta und Vena cava dargestellt und zwischen den Nierenabgängen und der Bifurkation mit jeweils zwei Fäden angeschlungen. Bei der operativen Darstellung wurde peinlich darauf geachtet, so wenig Gefäße wie möglich zu verletzen. Zur Ausschaltung der Blutgerinnung wurden 10.000 U.S.P.E. Heparin/Körpergewicht (kg) Liquemin Roche injiziert.
Nachdem das Blut ungerinnbar geworden war, wurde die Vena cava unterbunden und ein Plastikvenenkatheter (1,0 x 1,5 cm Ø) durch eine kleine Incision der Gefäßwand in das Lumen eingeführt.
Dabei vergewisserten wir uns, daß der Katheter vor der Bifurkation endete.
Mit dem distalen Faden wurde der Katheter wasserdicht in das Gefäß eingebunden. In gleicher Weise verfuhren wir an der Aorta. Nachdem beide Katheter in situ lagen, wurde vor Beginn der Infusion ihre Durchgängigkeit überprüft.
Durch den Aortenkatheter wurde über ein Transfusionsbesteck aus einem Meter Höhe eine Lösung von chinesischer Tusche (Herst. Rotring) im Verhältnis 1:4 mit Ringer-Lösung verdünnt, infundiert. Mit Beginn der Infusion wurden die Versuchstiere durch die Injektion einer Überdosis Nembutal in die Ohrrandvene getötet.

Zur röntgenologischen Darstellung der Gefäße wurde diese Infusionslösung mit 15 ml Micropaque (Herst. Nicholas) auf 100 ml versetzt.
In Schräglage des Tieres (Kopf oben, Beine unten) wurden innerhalb von 3 - 4 Stunden 1,5 l. zugeführt. Die aus dem Cava-Katheter zurückströmende Lösung wurde aufgefangen und gemessen.

Betrug die aufgefangene Menge 500 ml, wurde dieser Katheter verschlossen.
Nach Abschluß der Infusion wurde mit einem hochempfindlichen und besonders feinzeichnenden Film (Mamorag T 3 Agfa Gevaert) eine Röntgenübersichtsaufnahme (Abb. 42, Tafel: 27, S. 91) angefertigt.

Anschließend wurden beide Tibien herausgelöst, die Osteosyntheseplatte entfernt und mit einem gleichen Film in beiden Ebenen geröntgt.
Da durch Herauslösen der Knochen und Abschrauben der Platte das Periost unterschiedlich stark beschädigt wurde, mußte es, um gleiche Bedingungen zu wahren, in allen Fällen ganz entfernt werden.
Zur histologischen Aufarbeitung wurde ein Knochenzylinder, der den Osteotomiespalt, die beiden Elektrodenlöcher und zur Orientierung das untere der beiden proximalen Bohrlöcher enthielt, herausgesägt. Dieser Zylinder wurde parallel zur Fibula in zwei Hälften zersägt.
Die sich jeweils entsprechenden Hälften beider Tibien wurden nach verschiedenen histologischen Techniken aufgearbeitet.

f) Histologische Technik

a) Spalteholztechnik

Um den Gefäßverlauf in anatomischen Substraten beobachten zu können, ist es erforderlich, diese durchsichtig zu machen.
Nach SPALTEHOLZ wird ein Optimum an Durchsichtigkeit dann erreicht, wenn die Aufhellungsflüssigkeit denselben Brechungsindex besitzt, wie die von ihr durchtränkten Gewebe.

SPALTEHOLZ wandte die optischen Gesetze der Lichtbrechung, der Reflexion und Resorption auf organisierte tierische und pflanzliche Körper an und konnte zeigen, daß die Durchsichtigkeit eines Präparates von dem Verhältnis zwischen reflektiertem und eindringendem Licht abhängt. An einem anatomischen Präparat wird an jeder Grenzfläche zwischen optisch differierenden Strukturen so viel von dem einfallenden Licht reflektiert und resorbiert, daß nur ein Bruchteil des Lichts den Körper durchdringt. Sollen diese Reflexionen im Inneren eines Körpers ausgeschaltet werden, müssen die unterschiedlichen Brechungsindices der einzelnen Teilchen auf ein Minimum reduziert werden, ehe die Lichtstrahlen ungehindert durch das Gewebe hindurchtreten können. Das Gewebe muß also vollständig mit einer Substanz durchtränkt werden, deren Brechungsindex dem mittleren Index des Körpers entspricht.
Für entkalkte menschliche Knochen gibt SPALTEHOLZ ein Gemisch aus fünf Gewichtsteilen Wintergrünöl und drei Gewichtsteilen Benzylbenzoat (Brechungsindex 1,56) an. Mit diesem Gemisch konnten wir nur gering entkalkte Kaninchentibien durchsichtig machen.

Methode:

1. Fixieren in Formalin 1 : 4
2. Wässern
3. Bleichen in 10 Vol% H_2O_2 bei 37° C
4. Wässern
5. Entwässern in der aufsteigenden Alkoholreihe
6. Übertragen in Benzol
7. Einlegen in die Endflüssigkeit
   5 Gewichtsteile Salicylsäuremethylester (Merck)
   und 3 Gewichtsteile Benzolsäurebenzylester (Merck)

β) Paraffineinbettung

Nach Formalinfixierung wurden die halbierten Knochenzylinder 24 Stunden gewässert und anschließend in einer Lösung von 80 ml 25%iger rauchender HCL, 100 ml 98% - 100% HCOOH und 820 ml H_2O elektrolytisch bei einem Strom von 1 - 2 A 8 Stunden lang entkalkt. Anschließend wurden sie 24 Stunden in 5%iges Lithiumsulfat gelegt. Nach Wässerung und Entwässerung in der aufsteigenden Alkoholreihe kamen die Knochen für jeweils 24 Stunden in ein Gemisch von gleichen Teilen 98% Alkohol und Butanol, anschließend in reines Butanol, dann bei 56°C in ein Gemisch von einem Teil Butanol und einem Teil Hartparaffin (Paraplast, Hersteller Sherwood USA) und schließlich in reines Paraffin. Das flüssige Paraffin wurde in kleine Ausgußformen gegossen und die halbierten Knochenzylinder so darin eingebettet, daß die offene Markhöhle - die spätere Schnittebene - nach unten zeigte. Nach Erstarren des Paraffins wurden von den Blöcken mit einem Tetrander (Hersteller Fa. Jung) 7 µ A dicke Schnitte angefertigt. Die Knochenschnitte wurden auf mit Eiweißglycoin vorbehandelte Objektträger aufgezogen. Um die sehr empfindlichen Schnitte zu strecken, wandten wir die von RUIJTER angegebenen Methode an, bei der der Objektträger statt mit Wasser mit einigen Tropfen eines Gemisches von Aceton 2 ml, Methylbenzoat, 1 Tropfen und 8 ml Aqua dest beschichtet wurde. Die Schnitte wurden mit Haemalaun-Eosin nach P.MAYER (s. S. 53) mit Azan nach HEIDENHAIN (s. S. 53) und nach MASSON-GOLDNER (s. S. 54) gefärbt.

He-Färbung

1) Kernfärbung in Haemalaun (Mikroskopische Kontrolle)	20 - 30 Minuten
2) Auswaschen in fließendem Wasser	30 Minuten
3) Mäßige Überfärbung in einer 0,1%igen wäßrigen Lösung von Eosin	5 - 10 Minuten
4) Auswaschen in Wasser	
5) Differenzieren in 80%igem Alkohol	
6) Absol. Alkohol	3 - 5 Minuten
7) Xylol	3 - 5 Minuten
Eindecken in Caedax	

Azan-Färbung nach HEIDENHAIN

1) Azocarmin — 45-60 Minuten im Wärmeschrank bei 60° C, 10 Minuten abkühlen

   0,1 g Azocarmin G in 100 ml Aqua dest aufgekocht, nach Abkühlen filtriert. 100 ml Lösung werden mit 1 ml Eisessig versetzt

2) Aqua dest

3) Differenzieren in Alkohol-Anilinlösung — 2-3 Minuten

   1 ml Anilinöl auf 1000 ml 90%igem Alkohol

4) Auswaschen des Anilins in essigsaurem Alkohol — 1/2-1 Minute

   1 ml Eisessig auf 100 ml 96%igem Alkohol

5) Beizung des Bindegewebes in 5%iger wäßriger Phosphorwolframsäure — 2 Stunden

   10 g lösen sich in 100 ml Aqua dest

6) Aqua dest

7) Anilinblau-Orange-Essigsäure — 1 Stunde

   0,5 g wasserlösliches Anilinblau und 2 g Orange G in 100 ml Aqua dest und 8 ml Eisessig kocht auf und filtriert nach Erkalten.
   Gebrauchslösung
   1 : 2 ml Aqua dest verdünnt

8) Aqua dest, Differenzieren in 96%igem Alkohol, absol.Alkohol, Xylol, Caedax

MASSON-GOLDNER-Färbung

WEIGERT: Eisenhaematoxylin 5 Minuten

Lösung A: 1 g Haematoxylin in 100 ml 96%igem Alkohol lösen

Lösung B: 1,16 g Eisenchlorid, 98 ml Aqua dest, 1 ml off. HCL

beide Lösungen 1:1 mischen (nur 20 Minuten haltbar), anschließend in stehendem Leitungswasser bläuen 15 Minuten

GOLDNER I 5 Minuten
(0,6 g Ponceau de Xylidine, 0,3 g Säurefuchsin, 900 ml Aqua dest, 1,8 ml Eisessig)

1%ige Essigsäure 1 Minute

GOLDNER II 5 Minuten
(45 g Phosphorwolframsäure, 900 ml Aqua dest, 18 g Orange G)

1%ige Essigsäure 1 Minute

GOLDNER III
(1,8 g Lichtgrün, 900 ml Aqua dest, 1,8 ml Eisessig)

1%ige Essigsäure 5 Minuten

absol. Alkohol (3 Portionen)

Xylol

Caedax

f) Kunststoffeinbettung

Zur Herstellung von Dünnschliffen des unentkalkten Knochens eignet sich das von HIRSCH und BOELLAARD angegebene Verfahren der Einbettung in Methylacrylsäureester hervorragend (s.S. 56). Mit der von DÜRR angegebenen Mikrosäge gelang es, den so eingebetteten Knochenzylinder in 100 µ dicke Schichten zu zersägen.
Das Schleifen der Sägeschnitte erfolgte manuell nach der Methode von FROST: Auf einer planen Glasplatte (300 x 200 - 10 mm) wird Naßschleifpapier fixiert. Die Platte liegt in einer Metallschale mit seitlichem Abflußrohr. Bei gleichmäßiger Wasserspülung wird das Präparat durch einen mit Schmirgelpapier umwickelten Objektträger gehalten und durch gleichmäßig kreisförmige Bewegungen geschliffen. War die erforderliche Dicke (50 µ) erreicht, wurde der Schliff gründlich im Wasser gespült.
Die getrockneten Dünnschliffe wurden mit erwärmter Glyceringelatine (Merck) eingedeckt und die Deckglasränder mit Zapponlack abgedichtet. Diese Dünnschliffe wurden im phasenverschobenen polarisierten und ultra-violetten Licht betrachtet.

g) Mikroskop und Fotozubehör

Die mikroangiographischen Knochenpräparate wurden mit dem Lupenaufnahmegerät Tessovar untersucht,Die Aufnahmen wurden mit dem Kleinbildkameraansatz C 35 bei automatischer Belichtung gemacht (Zeiss). Die Paraffinschnitte wurden im Fotomikroskop II (Zeiss) betrachtet, dieses Mikroskop war außerdem mit einer einfachen Polarisationseinrichtung ausgerüstet.

Einbettung in Methacrylsäuremethylester

1) Fixierung in 70%igem Alkohol — 3 Wochen

2) Entfetten in einem Gemisch von 3 Teilen 96%igem Alkohol und einem Teil Chloroform, 2 x wechseln — 1-2 Tage

3) Entwässern in Aceton, 2 x wechseln — 2 Tage

4) Einlegen in ein Gemisch aus Methacrylsäuremethylester mit 100 ppm Hydrochinon (Merck) 5 ml und im Brutschrank bei 37° C getrocknetem Benzolperoxyd 0,1 g — 24 Tage

5) Einlegen in das Einbettungsmedium, bestehend aus

Methacrylsäuremethylester	100 ml
Polyäthylenglycoll 1500	200 g

1 x wechseln (am nächsten Tag)

Methacrylsäuremethylester und Polyäthylenglycoll werden 24 Stunden in dunkler Flasche vor Gebrauch gemischt und bei 37°C im Brutschrank gelöst. Benzolperoxyd ist der Polymerisationsbeschleuniger, der im wasserfeuchten Zustand vorliegt und muß vor Verwendung bei 37°C in kleinen Portionen getrocknet werden. Benzolperoxyd wird kurz vor Gebrauch hinzugefügt.

Die Polymerisation erfolgt in einem Wasserbad bei 37° C, Dauer — 3-5 Tage

Die Fluoreszenzmikroskopie wurde mit dem großen Fluoreszenzmikroskop (Zeiss) durchgeführt
Die Präparate konnten im durchfallenden UV-Licht (Lampe Philipps HBO 200) unter Verwendung eines Hitzefilters, eines Erregerfilters BG 12 und eines Sperrfilters 53 betrachtet werden.

Ergebnisse

1. Postoperativer Verlauf

Von den 51 operierten Kaninchen überlebten alle die Operation. Die dreimal aufgetretene bedrohliche Atemdepression durch die Thalamonal-Narkose konnte durch Injektion kleinster Mengen Lorfan (Dosis nach Wirkung) schnell beseitigt werden.

Bei 46 der 51 Tiere wurde einer Tibia Strom zugeführt, die andere wurde als Kontrollseite nur mit Leerelektroden versorgt. Zur Methodenkontrolle wurde an fünf Tieren die oben beschriebene Operation als beidseitiger Leerversuch durchgeführt.

An sieben Tieren wurden lokale Infektionen festgestellt.

Während der Versuchsdauer starben sechs Kaninchen an gastrointestinalen Infektionen mit Durchfällen.

Drei Tiere überlebten die Tetracyclin-Injektionen nur wenige Tage.

Bei sechs Tieren wurde der Bruchspalt nicht knöchern durchbaut, außerdem nahmen sie während der Versuchsdauer nicht an Gewicht zu. Als Ursache nehmen wir Umwelteinflüsse an. Die allgemeine Erfahrung mit Versuchstieren und besonders mit Kaninchen zeigt, daß die Tiere im Winter nicht sehr widerstandsfähig und besonders krankheitsanfällig sind. Diese Tiere wurden während der Monate November bis März operiert.

14 Tiere konnten wegen ungenügender Adaptation der Knochenfragmente nicht ausgewertet werden (Abb. 12, Tafel: 9, S. 38).

Histologisch aufgearbeitet wurden 13 Tiere, die im Links-Rechts-Versuch an einer Tibia mit Leerelektroden und an der anderen Tibia mit Stromelektroden versorgt worden waren. Von der Kontrollserie konnten zwei Tiere verwertet werden (s. Tabelle 7).

Ausgewertet wurden nur solche Tiere, bei denen die Versuchsbedingungen erfüllt waren.

Bedingungen:

1.) Osteotomie der Tibien in gleicher Höhe

2.) Beidseits stufenlose Druckosteosynthese

3.) Komplikationsloser Wundheilungsverlauf

4.) Keine allgemeinen und lokalen Infektionen

5.) Konstanter Strom während der Versuchsdauer

6.) Gewichtszunahme des Tieres während der Versuchsdauer

7.) Beidseits knöcherne Heilung der Fraktur bei Versuchsende

Tabelle 7 Ausgewertete Tiere und Untersuchungsverfahren

Gruppe I - III Stromseite : 5 u A
Leerseite : O u A
Gruppe IV beidseits kein Strom

	Gruppe I Versuchsdauer 31 - 34 Tage			Gruppe II Versuchsdauer 44 - 57 Tage					Gruppe III Versuchsdauer 64 - 77 Tage					Gruppe IV Kontrollserie	
Versuchstier Nr.	558	561	571	563	566	455	581	580	495	554	543	549	528	595	598
Versuchsdauer	34	32	31	57	50	48	45	44	77	72	68	68	64	50	50
Röntgenbild	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Angiographie	+	+		+	+					+		+	+		
Mikroangiographie	+	+		+	+	+			+	+	+	+	+		
Fluoreszenz	+	+		+	+		+	+	+	+		+	+		
Phasenkontrast	+	+		+	+		+	+	+	+		+	+	+	+
Polarisiertes Licht	+	+		+	+		+	+	+	+		+	+	+	+
H.E.			+				+	+			+		+	+	+
Azan			+				+	+			+		+	+	+
MASSON-GOLDNER			+				+	+			+		+	+	+

2. Primäre Knochenbruchheilung

Nach der Morphologie unterscheiden wir zwei Arten der primären Knochenheilung: Die Kontakt- oder intracaniculäre Heilung (SCHENK) und die Spaltheilung oder primär angiogene Knochenheilung.
DANIS beschrieb 1956 die knöcherne Vereinigung von Knochenfragmenten nach Osteosynthese ohne die Ausbildung eines röntgenologisch nachweisbaren Callusgewebes. Dieses Phänomen umschrieb er mit dem Begriff Soudure autogène (direkte Verschmelzung der Frakturfragmente). Unter diesem Begriff versteht man die knöcherne Heilung per primam intentionem, d.h. unter Vermeidung der Callusnarbe bei gleichzeitigem Verschwinden des Bruchspalts (WIESER). Bei dieser Art der Heilung geht die Regeneration in gewissem Ausmaß von der Corticalis aus, wie DANIS als erster vermerkte.
Die knöcherne Heilung bei konservativer Versorgung der Fraktur geht von knochenbildenden Zellen des Periosts und Endosts aus. Hierbei wird stufenweise über sich ablösende Binde- und Stützgewebe von verschieden hohem Differenzierungsgrad ein bindegewebiger oder knorpeliger Callus gebildet. Über die desmale oder chondrale Ossifikation wird dieser Callus durch Faserknochen ersetzt. Sind die Fragmentenden durch diese Knochennarbe (Fixationscallus) stabilisiert, setzen die Umbauvorgänge ein, die zur Restitution der ursprünglich lamellär gebauten Corticalis führen.

BASSET, CREIGHTON und STINCHFIELD konnten 1961 die Regenerationsfähigkeit der Corticalis nachweisen, indem sie Corticalisdefekte, bei denen durch Kunststoffmembranen der Einfluß des Periosts und Endosts sicher ausgeschaltet wurde, zur Abheilung brachten.

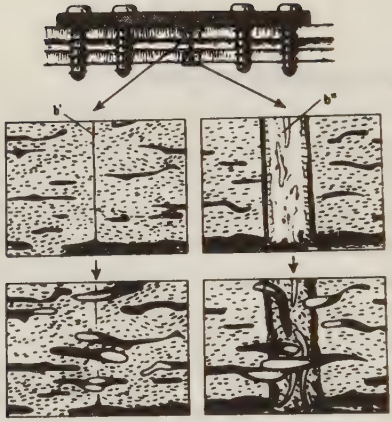


Abb. 13 Primäre Knochenheilung

Primär angiogene Frakturheilung unter stabilen Osteosynthesebedingungen (am Hunderadius). Direkt unter der Zuggurtungsplatte ist die Corticalis aufs engste adaptiert. Die histomorphologischen Heilvorgänge, welche hier stattfinden, bezeichnet man mit Kontaktheilung (b'). In der gegenüberliegenden Corticalis zeigt sich eine schmale Spaltlücke. Sie kam dadurch zustande, daß der leicht gebogene Röhrenknochen durch die Zuggurtungsplatte gestreckt worden ist und der plattenfernen Corticalis etwas auseinanderwich. Die Knochenneubildungsvorgänge, welche an solchen Stellen stattfinden, nennt man Spaltheilung (b''). Aus: Frakturenlehre H.WILLENEGGER in Allgemeine und spezielle Chirurgie, M.ALLGÖWER, Springer 1972 mit freundlicher Genehmigung des Verlegers.

Tafel: 10

ALLGÖWER, MÜLLER, SCHENK und WILLENEGGER konnten an feinen Osteotomien des Hunderadius, die mit einer Plattenosteosynthese ohne Druck versorgt wurden, das Einwachsen von Capillaren aus dem Haver'schen System in den Spalt nachweisen. In dem sehr schmalen Spalt bildeten die Capillaren und die sie begleitenden Zellen unmittelbar lamellären Knochen. Im weiteren Verlauf wuchsen die Haver'schen Systeme über die Osteotomielinie hinweg, so daß die normale Architektur der Compacta wiederhergestellt war. Dieser Ablauf der Ossifikation wird mit dem Begriff primär angiogene Knochenheilung umschrieben. Dieser Begriff ist nicht der primär angiogenen Knochenbildung nach KROMPECHER gleichzusetzen. KROMPECHER stellt der über ein knorpeliges oder bindegewebiges Vorstadium ablaufenden embryonalen Knochenbildung eine im mechanisch neutralen Milieu ohne Bildung eines intermedären Hilfsgewebes vor sich gehende primär angiogene Ossifikation gegenüber.
Die primär angiogene Knochenbildung im Sinne KROMPECHERs kommt bei der Anlage der Schädelkalotte vor.

SCHENK und WILLENEGGER gelang es, nach exakter anatomischer Reposition und Druckosteosynthese die beiden Fragmentenden in so dichten Flächenkontakt zu bringen, daß in diese feine Spalte weder Zellen, noch Blutgefäße einwachsen konnten. Unter diesen Bedingungen wurden die Fragmentenden von durchwachsenden Osteonen miteinander verzapft.
Berühren sich bei stabiler Osteosynthese die Corticalisflächen nicht direkt, erfolgt die knöcherne Konsolidierung nach dem Modus der primär angiogenen Knochenheilung. Die Herkunft der Capillaren richtet sich nach den lokalen Gegebenheiten, sie können aus dem Periost, dem Endost und auch aus den Haver'schen Systemen der Compacta abstammen (Abb. 13, S. 62).

Bei den von uns ausgewerteten Tibien verlief die knöcherne Konsolidierung der Osteotomie an beiden Tibien im Sinne der primär angiogenen Ossifikation. Die Kontaktheilung konnten wir vereinzelt beobachten. Wir führen das auf unsere Versuchsbedingungen zurück. Zum ersten kann man die Fragmente mit der von SCHENK und WILLENEGGER verwandten geraden Druckosteosyntheseplatte stärker unter Kompression bringen als mit selbstspannenden Drittelrohrplatten aus Metall oder Kunststoff.
Zum zweiten führen wir unsere Versuche anders als SCHENK und WILLENEGGER an beiden Tibien durch, so daß die Versuchstiere post operationem sofort voll belasten mußten und nicht in der ersten Phase die operierte Extremität schonen konnten.
MÜLLER und PERREN geben an, daß bei praktisch allen Frakturen und Osteotomien neben Stellen direkter Kontakte zwischen den Fragmentenden auch Stellen zu finden sind, an denen die beiden Fragmentenden mehr oder weniger klaffen.

SCHENK und WILLENEGGER beobachteten die Kontaktheilung ausschließlich an den unter der Osteosyntheseplatte liegenden Fragmenten, die plattenfernen Osteotomiebezirke heilen primär entsprechend der angiogenen Ossifikation.

3. Die primär angiogene Osteotomieheilung unter dem Einfluß von elektrischem Gleichstrom von 5 µ

An Hand von Ergebnissen röntgenologischer, angiologischer und verschiedener histologischer Verfahren können wir die Osteotomieheilung unter Gleichstrom-

Abb. 14 Versuchstier Nr. 561, Gruppe I. Zustand 32 Tage post operationem. Stromseite an den angelöteten Litzen zu erkennen. Periostale Knochenauflage auf der Stromseite (weiteres siehe Text).

Tafel: 11

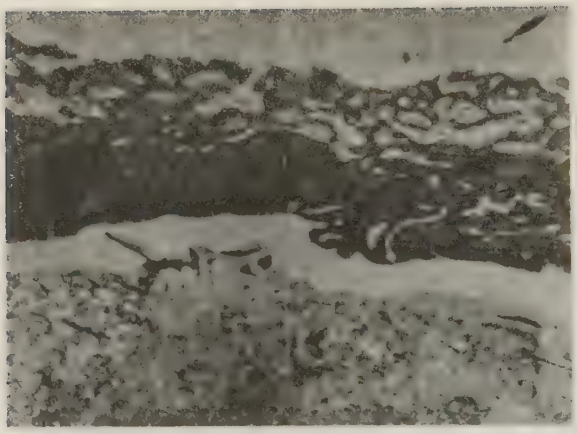


Abb. 15 Versuchstier 571, Gruppe I, leer, Zustand 31 Tage post operationem, 4-fach MASSON u. GOLDNER. Geringe Callusbildung, primäre Knochenheilung.

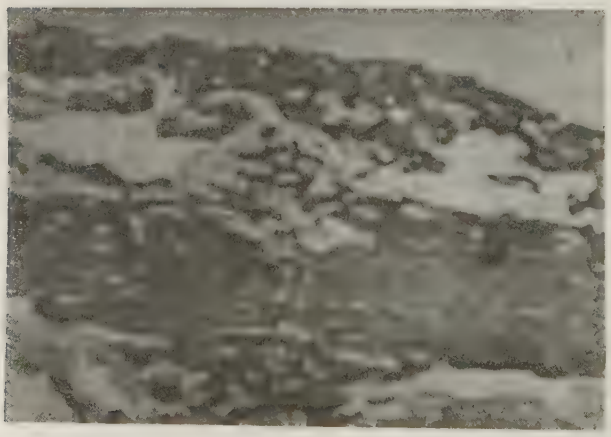


Abb. 16 Versuchstier Nr. 571, Gruppe I, Strom. Zustand 31 Tage post operationem, 4-fach MASSON u. GOLDNER. Vergl. Abb. 15. Bei stabiler Osteosynthese deutlich vermehrte endostale und periostale Callusbildung (Elektrocallus).

Tafel: 12

einwirkung in einem Zeitraum von 31 bis 77 Tagen post operationem verfolgen.

a) Gruppe I (Versuchsdauer 31-34 Tage, Versuchstiere Nr. 558, 561 und 571, vergl.Tabelle 4, S.60)

In Gruppe I sind drei Tiere zusammengefaßt, bei denen der Versuch zwischen 31 und 34 Tagen post operationem beendet wurde.
Die röntgenologische Untersuchung in beiden Ebenen zeigt 32 Tage post operationem den Beginn der knöchernen Konsolidierung beider Tibien in anatomischer Stellung. Die Osteotomie der linken durchströmten Tibia ist im anterior posterioren Strahlengang vollständig knöchern durchbaut. Auf der nicht durchströmten Tibia im gleichen Strahlengang ist die Osteotomie als feine Linie noch zu erkennen (Abb. 14, Tafel: 11, S. 65).
Die periostale Knochenauflagerung auf der Stromseite ist, wie aus der Aufnahme klar zu erkennen, nicht auf Instabilität der Osteosynthese, sondern auf die Stimulierung der periostalen Knochenbildung durch den zugeführten Strom zurückzuführen.

Die seitliche Aufnahme zeigt bei exakter anatomischer Stellung auf der Stromseite eine bessere knöcherne Durchbauung der Osteotomie als auf der Leerseite. Röntgenologisch sind beidseits die Bedingungen der primären Knochenbruchheilung erfüllt.

Die histologische Übersicht zeigt auf der Stromseite gegenüber der Leerseite eine vermehrte periostale und endostale Callusbildung (Abb.14,S. 65, Versuchstier Nr.561 u.Abb. 15 u.16, S.66, Versuchstier Nr. 571).
In dem nach MASSON-GOLDNER gefärbten Paraffinschnitt erkennen wir, daß die Osteotomiespalten beidseits mit Knochen ausgefüllt sind. Die primär

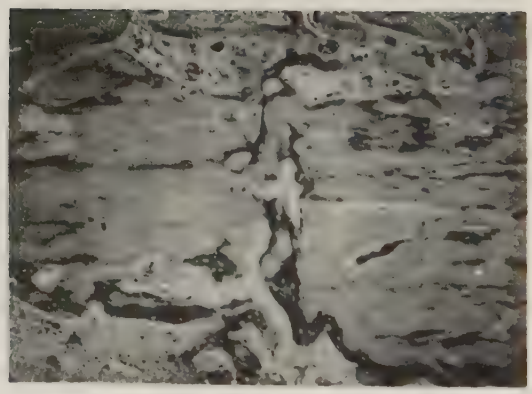


Abb. 17 Versuchstier Nr. 571, Gruppe I, leer, 16-fach MASSON u. GOLDNER. Primär angiogene Knochenheilung im Bruchspalt.

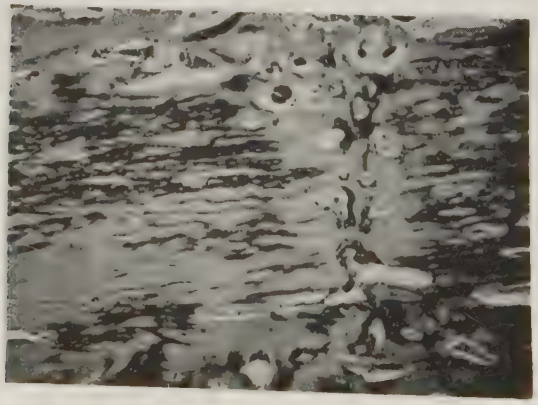


Abb. 18 Versuchstier Nr. 571, Gruppe I, Strom, 16-fach MASSON u. GOLDNER. Primär angiogene Knochenheilung im Bruchspalt. Keine Zeichen mechanischer Instabilität, trotzdem starke periostale und endostale Callusbildung (vergl. Abb. 16 u. 17).

Tafel: 13

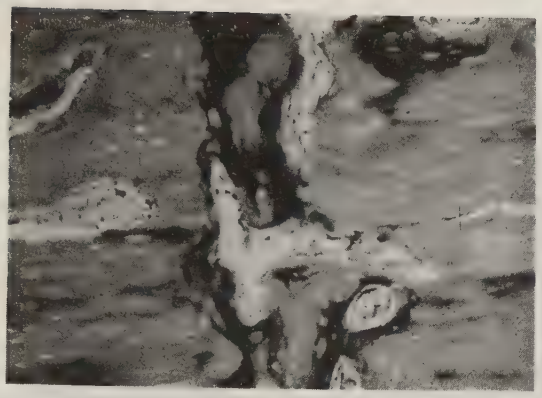


Abb. 19 Versuchstier Nr. 571, Gruppe I, lerr, 49-fach MASSON u. GOLDNER.

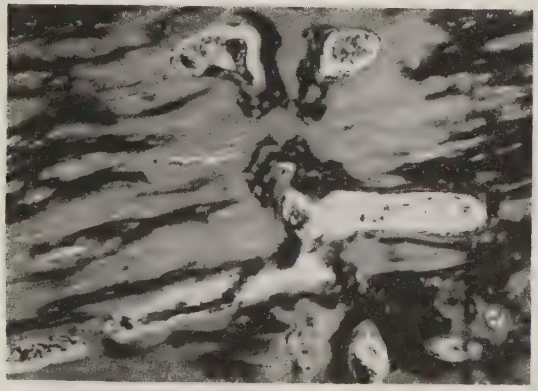


Abb. 20 Versuchstier Nr. 571, Gruppe I, Strom, 49-fach MASSON u. GOLDNER.

Tafel: 14

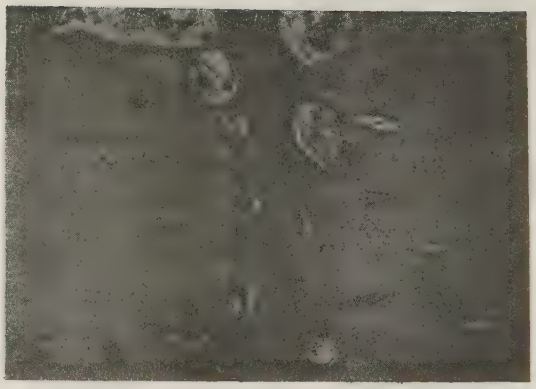


Abb. 21 Versuchstier Nr. 558, Gruppe I, Strom, 49-fach H.E. 31 Tage post operationem.

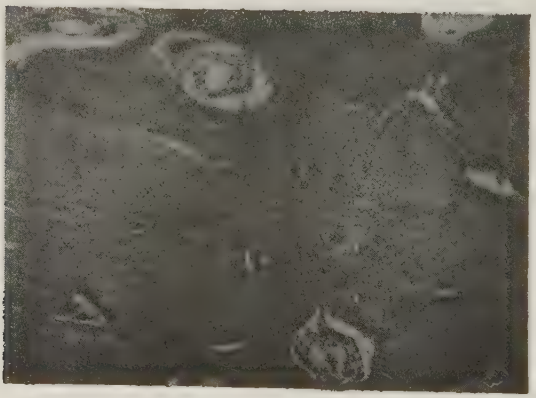


Abb. 22 Versuchstier Nr. 558, Gruppe I, leer, 49-fach H.E. 31 Tage post operationem. Im oberen rechten Drittel des Bildes (distales Fragment) sind mehrere Lakunen zu erkennen. Im Vergleich zur Stromseite (Abb. 21) ist der Bruchspalt deutlich breiter. Resorptionen am Fragment am geschlängelten Verlauf der ursprünglich gerade verlaufenden Osteotomie erkennbar.

Tafel: 15

angiogene Ossifikation ging von Markraumgefäßen und periostalen Kapillarsprossen aus (Abb. 17 u. 18, Tafel: 13, S. 68).

Kapillaren sprießen von durch die Osteotomie angeschnittenen Haverschen System in den Bruchspalt ein (Abb. 19, Leerseite, Tafel: 14, S. 69).
In derselben Abbildung fällt neben zahlreichen vergrößerten Haverschen Systemen ein kleines auf (rechts im Bild). Die die Kapillaren begleitenden Knochenzellen, es handelt sich um Zellen, die von der Endostauskleidung der Osteone abstammen - wurden durch lokale Destruktion des Knochens und durch die Beeinträchtigung der Blutversorgung infolge der Osteotomie zur Regeneration stimuliert. Der erste Schritt bestand darin, toten Knochen abzubauen. Die Resorption des Knochens wird von Osteoclasten vorgenommen, die wie von SCHENK sehr anschaulich beschrieben, gleich Bohrköpfen in die Corticalis eindringen und durch Aushöhlung des toten Knochens Platz für neue Knochenlamallen schaffen. Die den Osteoclasten folgenden Osteoblasten lagern in diesen Höhlen schichtweise Osteoid ein, das anschließend verkalkt.
Auf der Stromseite (Abb. 20, Tafel: 14, S. 69) besteht bis auf ein wesentliches Detail die gleiche Situation. In der unteren Bildhälfte erkennen wir ein Z-förmiges Osteon. Dieses Haversche System scheint aus der Verschmelzung zweier Osteone entstanden zu sein, die danach trachteten, das gegenüberliegende Fragment auf dem kürzesten Wege zu erreichen. Es ist an dieser Stelle über den Spalt hinweg zu einer Verzapfung der Fragmente gekommen.

Bei Versuchstier Nr. 558 werden die beiden Fragmentenden durch neugebildeten Knochen verbunden (Abb. 21, Tafel: 15, Seite 70). Durch die Osteoclasten wurden Volkmannsche Kanäle und Haversche Systeme erweitert.

Auf der Leerseite (Abb. 22, Tafel: 15, S. 70) frißt sich ein kolbenförmig aufgetriebener Bohrkopf durch die Corticalis auf den Bruchspalt zu. Die Vitalität der Fragmentenden hängt zum größten Teil von der Blutversorgung der Knochenzellen ab.

Die Überlebenschance der Knochenzellen nach der Beeinträchtigung ihrer Blutversorgung durch die Osteotomie wird von der Anzahl funktionstüchtiger Anastomosen bestimmt. Das Verhalten der Gefäße und Zellen in den Osteonen beschreiben den Zustand des Organs. Bohrköpfe in unmittelbarer Umgebung der Osteotomie deuten auf vitales Knochengewebe hin. Die Vitalität kann man auch an den Osteozyten beurteilen, die auf Grund ihrer großen Kontaktfläche mit den Knochenmineralien an der Calcium-Homeostase beteiligt sind. Osteozyten sind ca. 20 x 10 x 5 µ große Zellen, die in einer allseits von mineralisierter Matrix begrenzten Höhle, Lakune genannt, eingemauert liegen. Von den Lakunen gehen radiär zwischen 40 bis 100 Kanälchen aus, Caniculi genannt, die mit den Caniculi anderer Lakunen und den Knochengefäßen anastomosieren. In der Caniculi verlaufen die Zellfortsätze der Osteozyten. Nach ihren zytomorphologischen Kennzeichen unterscheiden wir aktive und inaktive Osteozyten. Beide Formen der Osteozyten können zu osteoblastären und osteoclastären Funktionsformen aktiviert werden.
Nach Absterben der Osteozyten bleiben leere, meist scharf begrenzte Lakunen zurück. Auf der Leerseite im distalen Fragment (Abb. 22, Tafel: 15, S. 70) können wir in der näheren Umgebung der Osteotomielinie mehrere solcher Lakunen finden. Das Absterben der Osteozyten ist auf die Beeinträchtigung der Blutzirkulation durch die Osteotomie zurückzuführen. Auffällig ist jedoch, daß wir zugrundegegangene Osteozyten nur auf der Leerseite beobachten können.

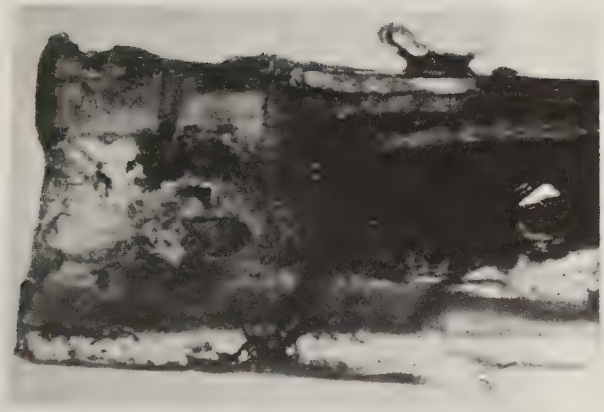


Abb. 23 Versuchstier Nr. 561, Gruppe I, bei Mikroangiographie. Spaltholz-Präparat 2-fach. Proximales Fragment durch Schraubenkanal gekennzeichnet. Zustand 32 Tage post operationem.

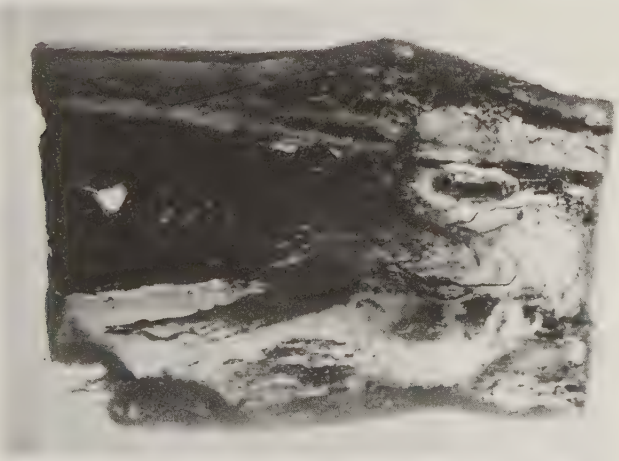


Abb. 24 Versuchstier Nr. 561, Gruppe I, Strom, Mikroangiographie, Spaltholzpräparat, 2-fach. Zustand 32 Tage post operationem. Im Vergleich zur Leerseite (Abb. 23) bessere Revascularisierung auf der Stromseite. Periostale Knochenauflagerung.

Tafel: 16

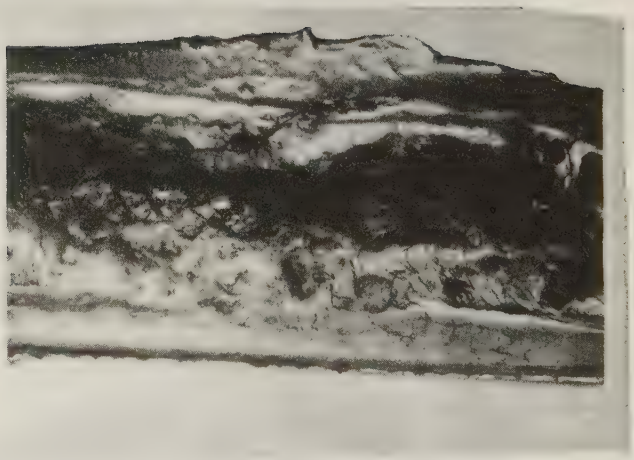


Abb. 25 Mikroangiographie der normalen Tibia in Höhe der tibiofibularen Synostose (Spalteholztechnik, 2,5-fach).

Tafel: 17

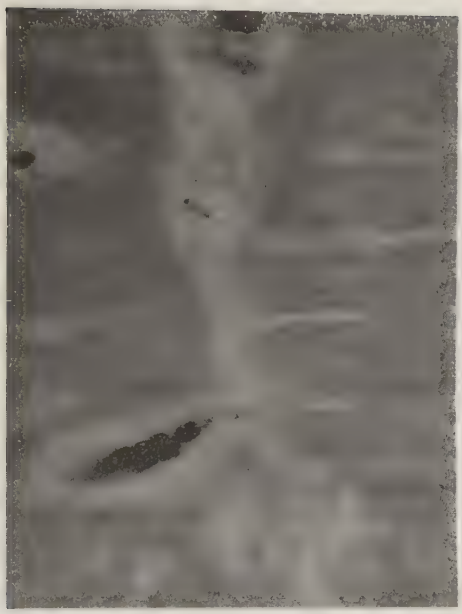


Abb. 26 Versuchstier Nr. 561, Gruppe I, Strom, 49-fach bei UV-Lichtanregung. Markierung mit Tetracyclin und Alizarin-Komplexon. Gefäßdarstellung durch Tuscheinfusion. Zustand 32 Tage post operationem.

Abb. 27 Versuchstier Nr. 561, Gruppe I, Strom, 49-fach bei UV-Lichtanregung. Zustand 32 Tage post operationem. Primär angiogene Knochenbildung.

Die mikroangiographischen Untersuchungen ergaben, daß 31 Tage post operationem die Vascularisierung der beiden Tibieniim Osteotomiebezirk unterschiedlich ist (Abb. 23, 24 u. 27, Tafel: 16 u. 18, S.73 u.75). In beiden Tibien ist die Markraumdurchblutung im distalen Fragment schlechter als im proximalen Fragment. Im distalen Fragment sind auf der Stromseite zwei Gefäße zu erkennen, die mit Gefäßen proximal der Osteotomie anastomosieren.
Auf der Stromseite imponieren in der Corticalis zahlreiche kleine und größere Gefäße, die die Osteotomielinie überschritten haben. Die Vascularisierung der Corticalis der Leerseite wird distal der Osteotomie deutlich schlechter. Auf der gegenüberliegenden Corticalis wird die ansonsten nur gering vascularisierte Corticalis im Frakturbezirk durch ein periostales Gefäßbündel versorgt.
Zum Vergleich: Gefäßverlauf in der nicht operierten Tibia (Abb. 25, Tafel: 17, S. 74).
Vergleichen wir die angiologischen Befunde mit den Ergebnissen der histologischen Untersuchung, so können wir daraus Rückschlüsse auf die Vitalität des Knochens ziehen.
Das Absterben der Osteozyten kann demnach auf die schlechtere Blutversorgung des Osteotomiebezirkes der Leerseite zurückgeführt werden.
Im Fluoreszenzmikroskop erkennen wir im Bruchspalt eine lebhafte Knochenneubildung (Abb. 26 u. 27, Tafel: 18,S. 75). Wie aus dem gleichen Präparat zu erkennen ist, (Abb. 28, Tafel:19, S.77) hat ein mit Tetracyclin und Alizarin markiertes und mit Tinte gefülltes Osteon den Osteotomiespalt überquert.
In der Umgebung der Gefäße (schwarze Linien und Punkte) beobachtet man unterschiedlich starke Tetracyclineinlagerungen.

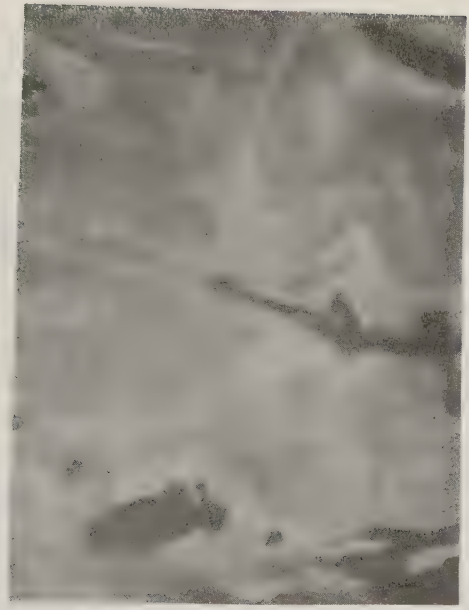


Abb. 28 Versuchstier Nr. 561, Gruppe I, Strom, 49-fach bei UV-Lichtanregung. Zustand 32 Tage post operationem. Markiertes Osteon überquert den Osteotomiespalt. Nur geringe Alizarin-Einlagerung.

Abb. 29 Versuchstier Nr. 561, Gruppe I, leer, 30-fach, polarisiertes Licht zwischen zwei gekreuzten Nicols und Gipsplatte, Rot I. Ordnung. 32 Tage post operationem. Der im Spalt gebildete Lamellenknochen ist nahezu senkrecht zur anatomischen Corticalisstruktur ausgerichtet.

Tafel 19

Der Bruchspalt der Leertibia ist knöchern durchbaut. Im Präparat beobachtet man bei UV-Anregung einen diffus gelb und rot aufleuchtenden Saum. Der Spalt ist von einer Vielzahl neuer Knochenlamellen ausgefüllt, die wie SCHENK und WILLENEGGER beschrieben haben, senkrecht zur ursprünglichen Corticalisstruktur ausgerichtet sind (Abb. 29, Tafel 19, S. 77).

Zusammenfassung Gruppe I

Zwischen dem 31. und 34. post operativen Tag ergibt sich folgendes Bild:

Die Osteotomien sind in anatomischer Stellung beidseits teilweise knöchern durchbaut. Zusätzlich finden wir auf der Stromseite endostalen und periostalen Callus, sogenannten Elektrocallus (Abb. 15 u.16, Tafel: 12, S. 66). Mikroangiographisch wurde auf der Stromseite eine bessere Vascularisierung des Osteotomiebezirkes als auf der Leerseite festgestellt (Abb. 23, 24 u. 27, Tafel: 16 u. 18, S. 73 u. 75). Im distalen Fragment der Leerseite wurden kleine avasculäre Knochenbezirke nachgewiesen (Abb. 22, Tafel: 15, S. 70). Im Osteotomiebezirk wurden zahlreiche Bohrköpfe gefunden (Abb. 17, 18, 19 u. 20, Tafel: 14 u. 14, S. 68 u. 69). Der Osteotomiespalt wird von Knochen überbrückt, dessen Lamellen rechtwinklig zur anatomischen Knochenstruktur ausgerichtet sind. Auf der Stromseite werden die beiden Fragmente von regenerierten Osteonen direkt verzapft (Abb. 20 u. 28, Tafel: 14 u. 18, S. 69 u. 75).
Auf der Leerseite ist der Osteotomiespalt breiter als auf der Stromseite. Dieses Problem wird gesondert erörtert (s. Seite 100 - 107).

Abb. 30 Versuchstier Nr. 563, Gruppe II. Röntgenologische Darstellung der Markraumgefäße 57 Tage post operationem. Durchströmte Tibia jeweils links abgebildet.

Tafel: 20

Abb. 31 Versuchstier Nr. 580, Gruppe II, leer, Azan 49-fach. Zustand 44 Tage post operationem. Die im Bruchspalt neugebildeten Osteone sind zum überwiegenden Teil senkrecht zur anatomischen Knochenstruktur ausgerichtet.

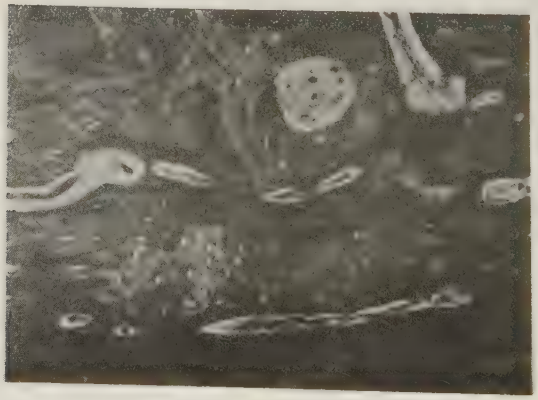


Abb. 32 Versuchstier Nr. 580, Gruppe II, Strom, Azan 49-fach. Zustand 44 Tage post operationem. Sekundär wachsen Osteone von der einen in die andere Corticalis hinüber (vergl. Abb. 31).

Tafel: 21

b) Gruppe II (Versuchsdauer 44 - 57 Tage, Versuchstiere Nr. 563, 566, 455, 581 u. 580 ,vergl. Tabelle 7, S. 60)
In Gruppe II sind fünf Tiere zusammengefaßt, bei denen der Versuch zwischen dem 44. und 57. Tag beendet wurde.
Die röntgenologische Untersuchung in beiden Ebenen zeigt am 57. post operativen Tag die nahezu vollständige knöcherne Heilung beider Tibiaosteotomien in anatomischer Stellung (Abb. 30, Tafel: 20, S. 79). Im anterior posterioren Strahlengang kann man die Osteotomie der linken durchströmten Tibia nicht klar von der Umgebung abgrenzen. Zur nicht durchströmten Kontrollseite bestehen nur graduelle Unterschiede. In beiden Ebenen sind auf der Stromseite periostale Knochenauflagerungen zu erkennen.
Röntgenologisch sind beidseits die Bedingungen der primären Knochenbruchheilung erfüllt.
Im mit Azan gefärbten Paraffinschnitt erkennen wir, daß die Osteotomiespalten mit Knochenlamellen ausgefüllt sind (Abb. 31 u. 32, Tafel: 21, S. 80). Beidseits finden wir zahlreiche erweiterte Osteone. Während auf der Leerseite (Abb. 31, Tafel: 21, S. 80) die neugebildeten Knochenlamellen überwiegend senkrecht zur anatomischen Knochenstruktur verlaufen, sind auf der Stromseite (Abb. 32, Tafel: 21, S. 80) mehrere Osteone sekundär von der einen in die andere Corticalis hinübergewachsen. Die Osteone sind zum Teil wieder auf ihre normale Größe reduziert, die Lakunen besitzen die typische längliche Form. An manchen Stellen ist der Osteotomiebezirk nicht mehr sicher von der Corticalis abzugrenzen.
Direkt unter der Osteosyntheseplatte konnten die Fragmente in dichten Flächenkontakt gebracht

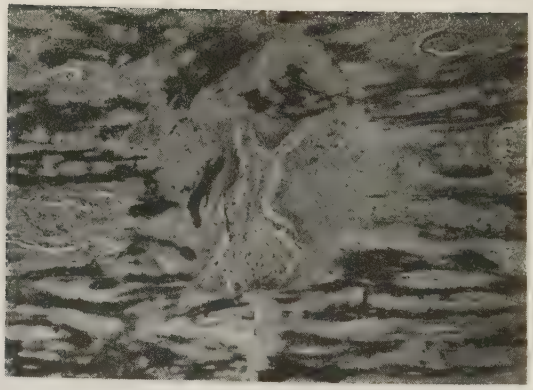


Abb. 33 Versuchstier Nr. 581, Gruppe II,Strom, MASSON u. GOLDNER 49-fach. Abstand zwischen den Fragmenten ca. 20 u (vergl. Abb. 34).

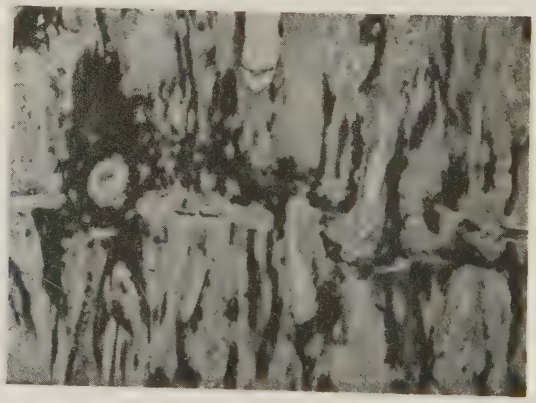


Abb. 34 Versuchstier Nr. 581, Gruppe II, leer, MASSON u. GOLDNER, 49-fach. 45 Tage post operationem. Die Osteoclasten an der Spitze der Osteone bahnen sich unter Abbau der nekrotischen Knochenteile den Weg von der einen Corticalis hinüber in das andere Fragmentende. **Abb. 34 ist gegenüber Abb. 35 um 90° gedreht.**

Tafel: 22

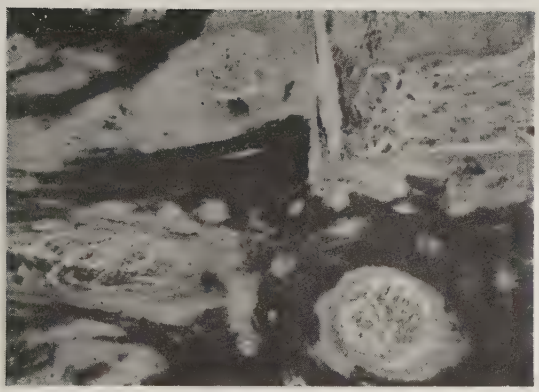


Abb. 35 Versuchstier Nr. 581, Gruppe II, Strom, MASSON u. GOLDNER, 112-fach. Die Osteoclasten an der Spitze der Osteone bahnen sich unter Abbau von nekrotischen Knochenteilen den Weg (rechtes oberes Bilddrittel) von der einen Corticalis hinüber in das andere Fragmentende.

Tafel: 23

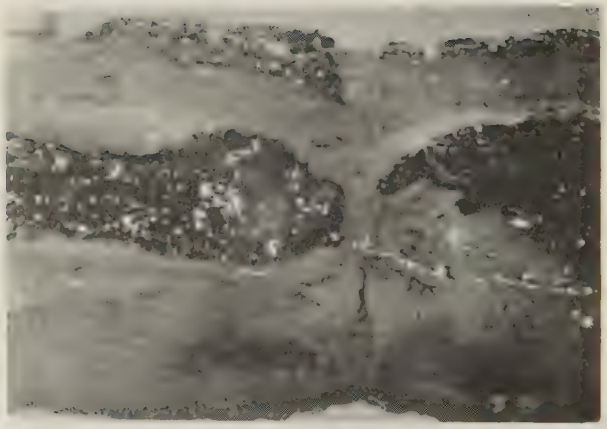


Abb. 36 Versuchstier Nr. 455, Gruppe II, leer, Mikroangiogramm, Spaltholztechnik, 2,5-fach.
Zustand 48 Tage post operationem. Osteotomiespalt nicht mehr zu erkennen. Endostale Knochenbildung in Höhe der Osteotomie. Markraumdurchblutung nicht wiederhergestellt. Corticalis in Höhe der Osteotomie gut vascularisiert.

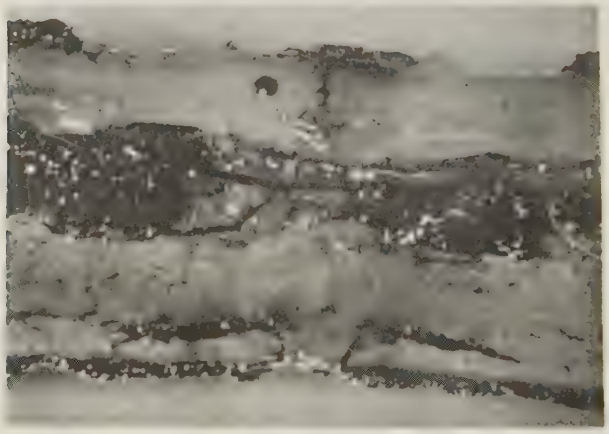


Abb. 37 Versuchstier Nr. 455, Gruppe II, Strom, Mikroangiogramm, Spaltholztechnik, 2,5-fach.
Zustand 48 Tage post operationem. Osteotomiespalt nicht mehr zu erkennen. Die Markraumdurchblutung ist wiederhergestellt. Die Corticalis in Höhe der Osteotomie ist gut vascularisiert.

Tafel: 24

werden, so daß weder vom Periost noch vom Endost aus Gefäßsprossen in den Spalt einwachsen konnten (Abb. 33 u. 34, Tafel: 22, S. 82).
Auf der Leerseite ist es ausgehend von einem Haver'schen System zur Resorption an den Fragmentenden gekommen (Abb. 33, Tafel: 22, S. 82).
45 Tage post operationem ist die Höhle weitgehend mit Knochen ausgefüllt, dessen Struktur von der normalen Corticalis zu unterscheiden ist.
Auf der Stromseite (Abb. 34, Tafel: 22, S. 82) sind Osteone von der einen in die andere Corcialis hinübergewachsen. Osteoclasten an der Spitze der Osteone bahnen unter Abbau der nekrotischen Knochenteile den Weg. Die ihnen direkt folgenden Osteoblasten bauen den lamellären Knochen gleichzeitig wieder auf (Abb. 35, Tafel 23, S. 83).

Mikroangiographisch wurde beidseits eine gute Vascularisierung der Fragmentenden nachgewiesen (Abb. 36 u. 37, Tafel: 24, S. 84). Die Corticalis in Höhe der Osteotomie ist nahezu normal vascularisiert (vergl. Abb. 25, Tafel: 17, S. 74).
Auf der Leerseite wurden die Corticalisgefäße im Osteotomiebereich fast ausschließlich von periostalen Gefäßen gespeist (Abb. 36, Tafel: 24, S. 84).
Auf der Stromseite überqueren ein großes und zahlreiche kleine Gefäße den Bruchspalt (Abb. 37, Tafel: 24, S. 84).
Röntgenologisch konnten auf der Stromseite vier und auf der Leerseite nur zwei Markraumgefäße dargestellt werden. Die größeren Gefäße enden beidseits ca. 0,5 cm vor der Osteotomie (Abb. 30, Tafel: 20, S. 80). Im distalen Fragment der Stromseite finden sich viele kleine Gefäße, die sich unscharf darstellen.
Im Fluoreszenzmikroskop erkennt man gelb und rot aufleuchtende Säume um Osteone (Abb. 38 u. 39, Tafel 25, S. 86), in die mit Tinte gefüllte Gefäße

Abb. 38 Versuchstier Nr. 566, Gruppe II, Strom, UV-Lichtanregung 45-fach. Doppelt markiertes Osteon hat den Bruchspalt überquert: Rotaufleuchtender Saum Alizarin, Gelbaufleuchtender Saum Tetracyclin und grünlich-gelb Fluoreszenz entspricht Wiedereinbau von freigesetztem Tetracyclin.

Tafel: 25

Abb. 39 Versuchstier Nr. 566, Gruppe II, leer, UV-Lichtanregung 45-fach. Zustand 50 Tage post operationem. Einlagerung der Fluochromen im Osteotomiespalt

Abb. 40 Versuchstier Nr. 581, Gruppe II, leer, UV-Lichtanregung 45-fach. Zustand 44 Tage post operationem. Im distalen Fragment, in unmittelbarer Umgebung des Bruchspalts(rechts im Bild) keine doppelt markierten Osteone.

Tafel: 26

Abb. 41 Versuchstier Nr.581, Gruppe II, Strom, UV-Lichtanregung 45-fach. Zustand 44 Tage post operationem. In unmittelbarer Nähe der Osteotomie zahlreiche zweifach markierte Osteone. Doppelt markiertes Osteon hat den Bruchspalt überquert. Wiedereinbau von freigesetztem Tetracyclin auf der Stromseite gegenüber der Leerseite (Abb. 40)deutlich vermehrt.

verlaufen. Durch die Kombination der Fluoreszenzmikroskopie mit einer angiographischen Methode wird die Verknüpfung von Capillarsprossung und Knochenneubildung anschaulich demonstriert.
Tetracyclin wurde am fünften post operativen Tag appliziert und Alizarin-Komplexon am 47. Tag, drei Tage vor Tötung des Tieres.
Auf der Stromseite (Abb. 38) ist sekundär ein Osteon von der einen in die andere Corticalis durchgewachsen. Die doppelte Markierung dieses Osteons beweist, daß es zum Zeitpunkt der ersten Markierung (fünfter post operativer Tag) von verkalkungsfähigem Osteoid umgeben war. Die zweite Markierung 42 Tage später hat sich in unmittelbarer Umgebung der ersten eingebaut.

Auf der Leerseite (Abb. 39) können wir die erste Markierung nur in den Fragmentenden nachweisen. Der Osteotomiespalt ist mit neugebildeten Osteonen und Knochenlamellen ausgefüllt, die im Zeitraum zwischen der ersten und zweiten Markierung gebildet wurden.

Die diffuse grünlich-gelb-farbene Fluoreszenz im Osteotomiespalt und um einige Osteone ist wahrscheinlich dadurch zu erklären, daß eingebautes Oxytetracyclin durch Resorption in den Fragmentenden wieder freigesetzt und dann in gerade verkalkende Bezirke eingebaut wird. Die Wiedereinlagerung von freigesetztem Tetracyclin konnten STEWART (1973) in Experimenten an Ratten nachweisen.

Abb. 40 und 41, Tafel: 26, S. 87, stammt von Versuchstier Nr. 581 (Gruppe II). Auf der Stromseite erkennen wir ein zum Teil doppelt markiertes Osteon, das über den Bruchspalt gewachsen ist.
Auf der Leerseite ist die Fluoreszenz im Osteotomiespalt klar von den nicht fluoreszierenden Fragmentenden zu unterscheiden (Abb. 40, Tafel: 26, S. 87).

Im proximalen Fragment leuchtet ein doppelt markiertes Osteon auf. Im distalen Fragment sind auch doppelt markierte Haver'sche Systeme vorhanden, die jedoch weiter von der Osteotomie entfernt liegen als im proximalen Bereich (vergl. Abb. 39, Tafel: 25, S. 86). Auf der Stromseite (Abb. 41, Tafel: 26, S. 87, fluoreszieren in unmittelbarer Nähe der Osteotomie distal und proximal doppelt markierte Osteone (vergl. Abb. 38, Tafel: 25, S. 86).
Die Fluoreszenzmikroskopie gestattet uns neben dem Nachweis von Mineralisationsfronten auch zur Vitalität des Knochens Aussagen zu machen, die über den Rahmen der Paraffinhistologie hinausgehen.

Der Einbau von Fluochromen um Haver'sche Systeme beweist den Umbau der Corticalis. Wie aus Abb. 41 und Tafel: 38 hervorgeht, konnten wir auf der Stromseite im distalen und proximalen Fragment doppelt markierte Osteone feststellen.
Der Wiedereinbau von freigesetztem Tetracyclin ist auf der Stromseite deutlich vermehrt, wie man aus den grün-gelblichen, unscharf begrenzten fluoreszierenden Bezirken in der Umgebung der Osteotomie entnehmen kann.

Zusammenfassung Gruppe II

Zwischen dem 44. und 57. post operativen Tag ergibt sich folgendes Bild:

Die Osteotomien sind in anatomischer Stellung beidseits knöchern durchbaut und röntgenologisch kaum noch darstellbar (Abb. 30, Tafel: 20, S. 79).
Histologisch ist auf der Stromseite der Umbau des im Spalt gebildeten Lamellenknochens im anatomisch ausgerichteten Knochen weiter fortgeschritten als auf der Leerseite (Abb. 31 u. 32, Tafel: 21, S. 80).

Unter der Osteosyntheseplatte kam es auf der Stromseite teilweise zur Kontaktheilung (Abb. 34, Tafel: 22, S. 82). Auf der Leerseite beobachteten wir bei gleich enger Adaptation der Fragmentenden (beidseits Bruchspalt im Mittel 20 u) Resorptionen an den Fragmentenden. Die Resorption ging von erweiterten Haver'schen Systemen aus. Die Osteoblasten lagerten anschließend Knochenlamellen an.

Mikroangiographisch wurde beidseits eine nahezu vollständige Revascularisierung der Corticalis im Osteotomiebezirk nachgewiesen. Auf der Leerseite war die Markraumdurchblutung in Höhe der Osteotomie unterbrochen, auf der Stromseite annähernd normal (Abb. 36 u. 37, Tafel: 24, S. 84).

Fluoreszenzmikroskopisch wurde beidseits im Osteotomiespalt lebhafte Knochenneubildung nachgewiesen (Abb. 38 u. 39, Tafel: 25, S. 86 und Abb. 40 u. 41, Tafel: 26, S. 87). Auf der Stromseite sind sekundär Osteone von der einen in die andere Corticalis über den Bruchspalt gewachsen. In den osteotomienahen Anteilen der Fragmentenden wurde ein stärkerer Umbau der Corticalis als auf der Leerseite festgestellt.

c) Gruppe III (Versuchsdauer 64 - 77 Tage, Versuchstiere Nr. 495, 554, 543, 549 und 528, vergl.Tab. 7, S. 60)
In Gruppe III sind fünf Tiere zusammengefaßt, bei denen der Versuch zwischen 64 und 77 Tagen nach dem Eingriff beendet wurde. In Abb. 42, S. 91, ist in der Übersicht der Zustand nach Kunststoffplattenosteosynthese und Gefäßfüllung mit oben beschriebener Lösung am 72. post operativen Tag dargestellt.

Abb. 42 Versuchstier Nr. 554, Gruppe III. Röntgenübersicht mit Gefäßdarstellung. Zustand 72 Tage nach beidseitiger Osteotomie und anschließender Plattenosteosynthese. Osteosyntheseplatte aus Methylacralat und Drahtkern zur Stabilisierung.

Tafel: 27

Abb. 43 Versuchstier Nr. 554, Gruppe III. Röntgenologische Darstellung der Markraumgefäße. Zustand 72 Tage post operationem.

Tafel: 28

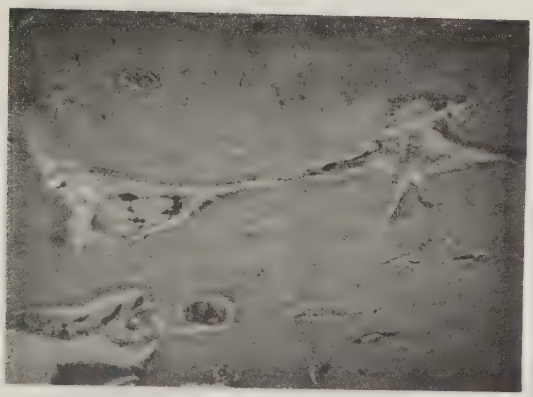


Abb. 44 Versuchstier Nr. 543, Gruppe III, Strom, H.E. 49-fach. Zustand 68 Tage post operationem. Osteotomie histologisch nahezu verheilt.

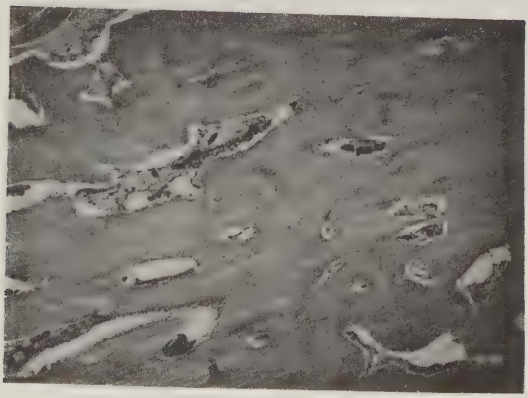


Abb. 45 Versuchstier Nr. 543, Gruppe III, leer, H.E. 49-fach. Zustand 68 Tage post operationem. Im distalen Fragment (rechts der Bildhälfte) sind einige leere Lakunen zu erkennen.

Tafel: 29

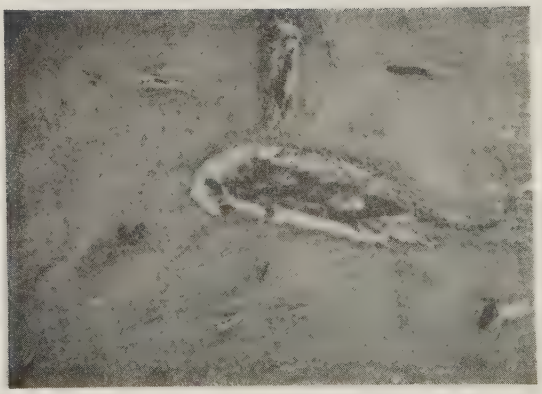


Abb. 46 Versuchstier Nr. 543, Gruppe III, leer, H.E. 60-fach. Bohrkopf mit Osteoclastenbesatz an der Spitze der Osteone. Capillaren und osteogene Zellen aus dem Endost, Auskleidung des Haver'schen Systems.

Tafel: 30

Die röntgenologische Untersuchung desselben Versuchstieres (Abb. 43, Tafel: 28, S. 92) zeigt die vollständige knöcherne Konsolidierung der Osteotomie beider Tibien in anatomischer Stellung. Auf der durchströmten, wie auch auf der nicht durchströmten Tibia ist die Osteotomie in beiden Ebenen nicht mehr zu erkennen. Lediglich auf der seitlichen Aufnahme der Leertibia wird eine feine Unterbrechung in der knöchernen Struktur sichtbar. Beidseits sind keine Zeichen mechanischer Instabilität vorhanden. Die Osteotomien sind röntgenologisch primär verheilt.
Die endostale Vascularisierung ist beidseits wieder hergestellt.
Der geschlängelte Verlauf der Markgefäße ist auf die räumliche Irritation durch die Schraubenkanäle zurückzuführen. Durch die Foramina nutricia in Schaft mitte (ca. 0,5 cm proximal der tibiofibularen Synostose) dringen Blutgefäße in die Markhöhle ein, die distal des Bruchspalts enden.
Im H.E.-gefärbten Paraffinschnitt sind die Osteotomiestellen kaum noch von den angrenzenden Corticalisbezirken zu unterscheiden. Beidseits überquert jeweils ein Osteon den ehemaligen Osteotomiespalt (Abb. 44 u. 45, Tafel: 29, S. 93). Im distalen Fragment der Leertibia finden sich in einem kleinen an die Osteotomie angrenzenden Bezirk leere Lakunen (Abb. 45, Tafel: 29, S. 93). Die Zahl der abgestorbenen Osteozyten ist im Verhältnis zu denen der vitalen Osteozyten sehr klein. Von den Haverschen Systemen geht ein lebhafter Umbau der Corticalis aus. In Abb. 46, Tafel: 30, S. 94) ist ein typischer Bohrkopf zu erkennen. An der Spitze finden sich größere mehrkernige Zellen (Osteoclasten), mehrere funktionstüchtige Capillaren, in der Endostauskleidung kleinere rundliche einkernige Zellen (Osteoblasten).

Abb. 47 Versuchstier Nr. 554, Gruppe III, leer, Polarisiertes Licht gekreuzte Nicols und Gipsplatte Rot I. Ordnung 45-fach. Zustand 72 Tage post operationem (näheres s. Text).

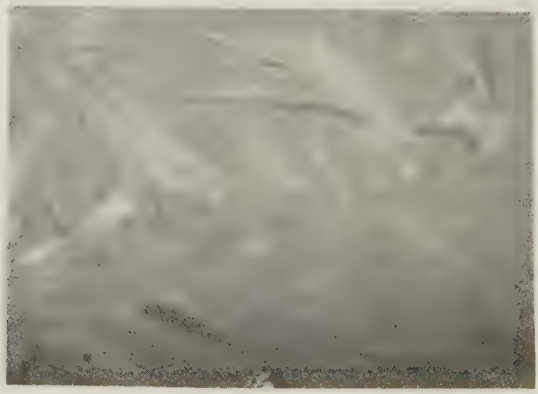


Abb. 48 Versuchstier Nr. 554, Gruppe III, Strom. Polarisiertes Licht, gekreuzte Nicols und Gips, Rotplatte I. Ordnung 45-fach. Zustand 72 Tage post operationem (näheres s. Text).

Tafel: 31

Im Polarisationsmikroskop können doppelt brechende Substanzen, z.B. Knochen im linear polarisierten Licht betrachtet werden.
Untersucht man Knochendünnschliffe im polarisierten Licht bei gekreuzten Nicols und Gipsplatte Rot I. Ordnung, kann man Aussagen über die Ausrichtung der Fibrillen machen.
Im Längsschnitt durch die normale Corticalis verlaufen die einzelnen Knochenfibrillen zum größten Teil parallel zur Knochenlängsachse. In dem oben beschriebenen Polarisationsverfahren erscheinen sie rot. Die blau erscheinenden Corticalisstrukturen verlaufen im rechten Winkel zu den roten Knochenfibrillen. Gelb sind alle die Bezirke gefärbt, in denen die Fibrillen schräg zu den anderen Richtungen verlaufen. Auf der Leerseite ist der Osteotomiebereich noch von der normalen Corticalis abgegrenzt. Neben gelben, blauen und roten Bezirken fallen besonders die schwarzgefüllten Osteone auf, die auf lebhaften Abbau und Anbau von Knochen schließen lassen (Abb. 47, Tafel: 31, S. 96). Die Osteotomieheilung hat den Zeitpunkt erreicht, an dem sich die zweite Phase der primär angiogenen Knochenheilung, d.h. die Umwandlung des senkrecht zur Knochenachse gebildeten Knochens in Knochen, dessen Längsachse parallel zur ursprünglichen Struktur verläuft, kurz vor dem Abschluß steht.
Der Osteotomiebezirk der Stromseite (Abb. 48, Tafel: 31, S. 96) hebt sich nur noch durch vereinzelt senkrecht (blau) und diagonal (gelb) zur anatomischen Knochenstruktur ausgerichteten Fibrillen von der angrenzenden Corticalis ab.
Fluoreszenzmikroskopisch konnte man die Osteotomiebezirke der Leer- und Stromseiten kaum noch von den angrenzenden Corticalisanteilen unterscheiden. Die distalen und proximalen Fragmentenden waren vital. Beidseits wurde durch die Einlagerung von Fluochromen corticaler Knochenumbau nachgewiesen.

Zusammenfassung Gruppe III

Zwischen dem 64. und 77. post operativen Tag ergibt sich folgendes Bild:

Die Osteotomien sind in anatomischer Stellung beidseits verheilt (Abb. 43, Tafel 28, S. 92).
Die röntgenologische Darstellung der Knochengefäße und das Mikroangiogramm zeigten beidseits eine normale Vascularisierung der Tibien im Osteotomiebezirk (Abb. 43, Tafel: 28, S. 92).
Histologisch sind die Osteotomiespalten sekundär schon so weit umgebaut, daß sie kaum noch von der normalen Corticalis unterschieden werden können (Abb. 44 u. 45, Tafel: 29, S. 93).
Polarisationsmikroskopisch wurde die sekundäre Umstrukturierung des neugebildeten Knochens untersucht. Der Umstrukturierungsprozeß war auf der Stromseite weiter fortgeschritten als auf der Leerseite (Abb. 47 u. 48, Tafel: 31, S. 96).

d) Gruppe IV (Kontrollserie, vergl. Tab. 7, S. 60)

In Gruppe IV sind zwei Tiere zusammengefaßt, bei denen zur Kontrolle der Operationsmethode die oben beschriebenen Operationen an beiden Tibien ohne Implantation von Elektroden durchgeführt wurde. Die Tiere wurden 50 Tage nach dem Eingriff getötet.

Es ergab sich folgendes Bild:

Die Osteotomien sind beidseits knöchern durchbaut.
Röntgenologisch sind keine Seitenunterschiede zu erkennen.
Histologisch ist der Osteotomiespalt beidseits von Lamellenknochen ausgefüllt. Beidseits ist die Osteotomie primär nach dem Modus der Spaltheilung verheilt.

Abb. 49 Versuchstier Nr. 598, Gruppe IV (Kontrollserie, beidseits keine Elektroden). linke Tibia. Polarisiertes Licht, gekreuzte Nicols, Gipsplatte Rot I. Ordnung 12-fach. Zustand 50 Tage post operationem.

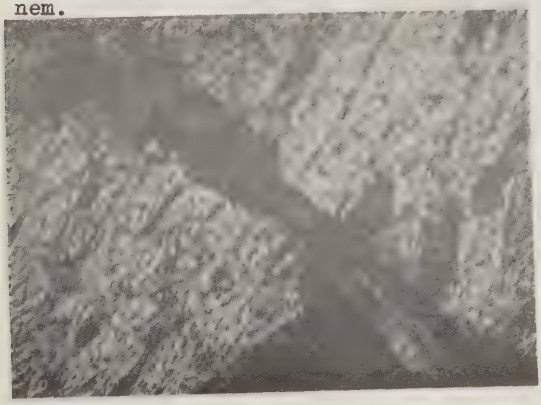


Abb. 50 Versuchstier Nr. 598, Gruppe IV (Kontrollserie, beidseits keine Elektroden) rechte Tibia. Polarisiertes Licht wie in Abb. 49, 12-fach. Zu Abb. 49 kaum Unterschiede (näheres s. Text und Tabelle: 9).

Tafel: 32

Polarisationsmikroskopisch wurde im Bruchspalt Lamellenknochen nachgewiesen, der zum überwiegenden Teil senkrecht zur anatomischen Knochenstruktur ausgerichtet ist (Abb. 49 u. 50, Tafel: 32, S. 99). Die Fragmentenden sind beidseits vital.

4. Statistische Auswertung der Osteotomiespaltbreite

Bei der histologischen Auswertung der in den Gruppen I und II zusammengefaßten Tiere fiel die unterschiedliche Breite des im Osteotomiespalt neugebildeten Knochens auf der Strom- und Leerseite auf. Durch doppelte Leerversuche konnten wir nachweisen, daß dieses Phänomen nur zu einem geringen Teil auf die Versuchsmethode zurückzuführen ist.
Um statistisch signifikante Aussagen über die Bruchspaltweite machen zu können, kombinieren wir ein objektives histologisches Meßverfahren mit einer statistischen Methode.

a) Methode
In ein Meßokular mit verstellbarer Augenlinse wurde ein Okularmikrometer eingelegt, das mit Hilfe eines Objektmikrometers geeicht wurde. Mit diesem Hilfsmittel wurde bei den Präparaten, in denen Knochenstruktur im Bruchspalt deutlich von der angrenzenden Corticalis zu unterscheiden war, die Entfernung zwischen den Knochenfragmenten parallel zur Knochenlängsachse gemessen.
Anschließend wurde statistisch untersucht, ob die Abweichung der Mittelwerte von der Leer- und durchströmten Tibia zufällig ist (große Streuung oder Varianz) oder ob zwischen ihnen ein signifikanter Unterschied besteht.

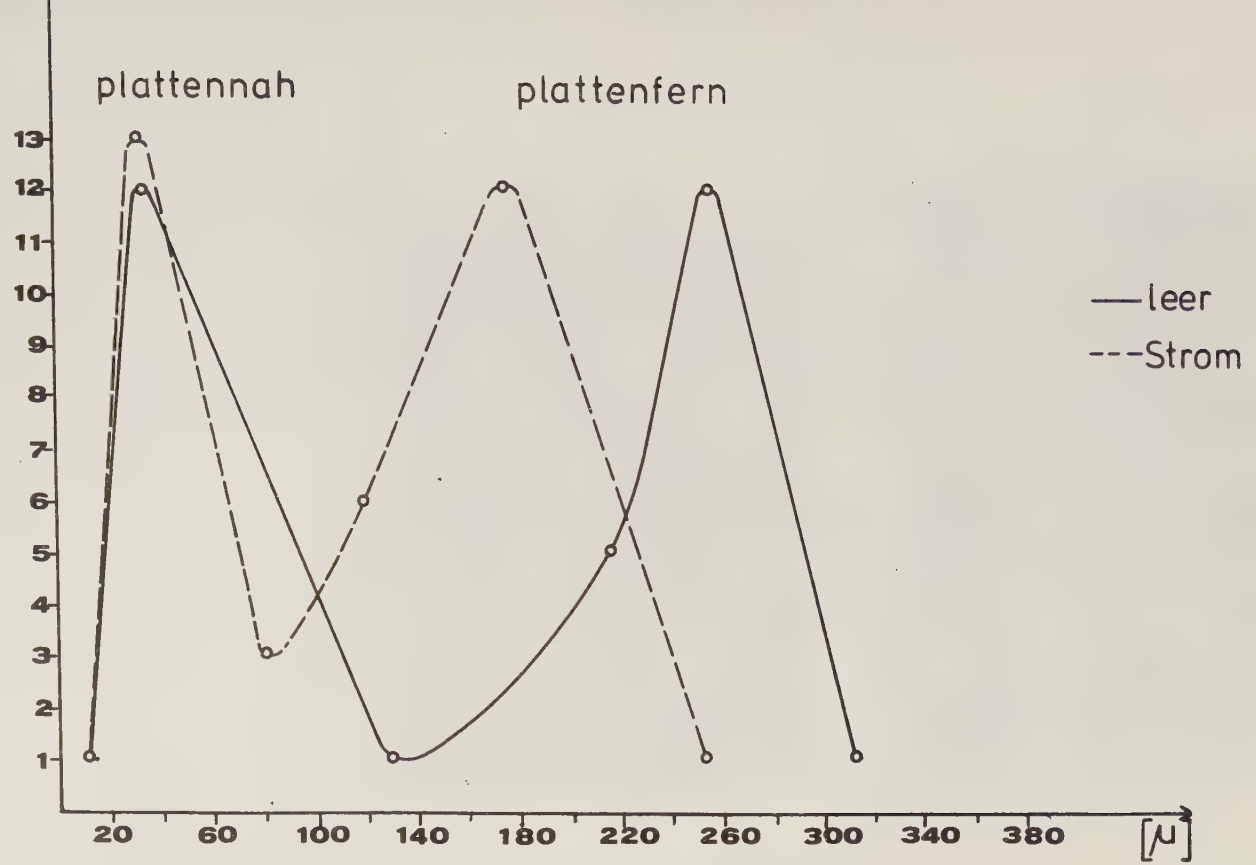


Abb.: 28 Versuchstier Nr. 581 Gruppe II Strom- und Leerseite
Verteilungskurve mit zwei Maxima

Die Anzahl der Stichproben von der nicht durchströmten und durchströmten Tibia waren gleich groß. Da die zu vergleichenden Stichproben von beiden Tibien eines Tieres stammten, mußte das Meßverfahren gleich sein.
Der Koaxialtrieb des Kreuztisches ist mit einer Mikrometerschraube ausgerüstet. Wir konnten daher das Präparat um gleiche Abstände unter dem Objektiv verschieben, so daß die Meßpunkte jeweils 0,1 mm voneinander entfernt waren.

b) Statistische Grundlagen

Insgesamt wurden von jeder Tibia 35 Stichproben genommen. Voraussetzung für die Durchführbarkeit des Testes ist die Normalverteilung der Stichproben. Die Verteilungskurve (Abb. 51, S. 101) zeigt jedoch, daß keine Normalverteilung vorliegt.
Wir finden jeweils eine Häufung um einen niedrigen und eine zweite um einen hohen Wert. Dies ist dadurch erklärlich, daß 20 Meßwerte von der plattenfernen und 15 von der plattennahen Corticalis abgelesen wurden.
In unseren Versuchen sind auf Grund der Osteosynthesetechnik die Fragmentenden direkt unter der Platte enger adaptiert als auf der plattenfernen Corticalis.

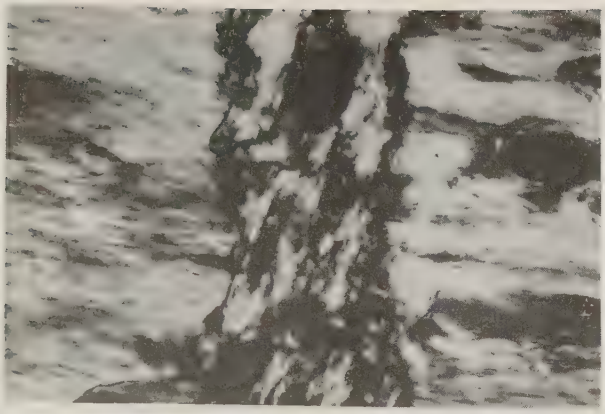


Abb. 52 Versuchstier Nr. 581, Gruppe II, leer, polarisiertes Licht 49-fach. s. Tabelle 9.

Abb. 53 Versuchstier Nr. 581, Gruppe II, Strom, polarisiertes Licht 49-fach, s. Tabelle 9.

Tafel: 34

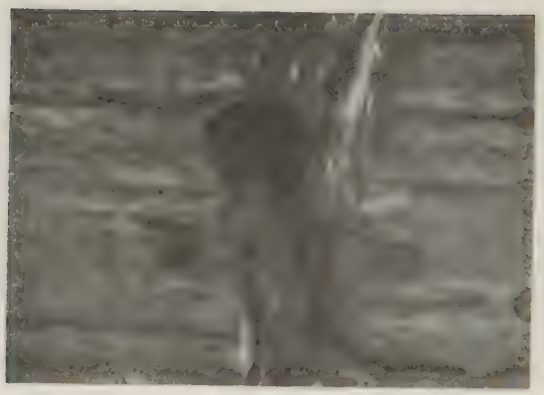


Abb. 54 Versuchstier Nr. 566, Gruppe II, leer, polarisiertes Licht 49-fach, s. Tabelle 9.

Abb. 55 Versuchstier Nr. 566, Gruppe II, Strom, polarisiertes Licht 49-fach, s. Tabelle 9.

Tafel: 35

c) Statistische Auswertung

Aus den geschilderten Gründen vergleichen wir die arithmetischen Mittelwerte der nicht durchströmten Tibia mit der durchströmten.

Tabelle 8 : Bruchspaltweiten Gruppe II und III

	$\bar{x}$ Stromseite ($m\ 10^{-6}$)	$\bar{x}$ Leerseite ($m\ 10^{-6}$)	Differenz ($m\ 10^{-6}$)	Differenz (%)
558	167,9	236,1	68,2	+ 40,6
566	117,2	170,0	52,8	+ 45,1
581	111,4	159,3	49,9	+ 44,8

(Die Differenz (%) wurde nach folgender Formel berechnet $\frac{\text{Leer - Strom.}}{\text{Strom}}$)

Tabelle 9 : Bruchspaltweiten Gruppe IV

	$\bar{x}$ Kontrollseite ($m\ 10^{-6}$)	$\bar{x}$ Kontrollseite ($m\ 10^{-6}$)	Differenz ($m\ 10^{-6}$)	Differenz (%)
595	153,6	170,5	16,9	+ 11,0
598	80,1	95,0	15	+ 19,2

In Tabelle 8 sind drei Tiere zusammengefaßt, bei denen die eine Tibia durchströmt und die andere mit Leerelektroden versorgt worden war. Im Mittel war auf der Leerseite der Bruchspalt um 42,9% breiter als auf der Stromseite (Abb. 21 u. 22, Tafel: 15, S 71, Abb. 52, 53, 54 u. 55, Tafel 34 u. 35, S. 103 bis 104).

In Tabelle 9 sind die beiden Tiere der Kontrollserie zusammengefaßt. Die Differenz der Osteotomiespaltweiten betrug im Mittel 15,5% (Abb. 49 u. 50, Tafel: 32, S. 99).

5. Zusammenfassung und Interpretation der Ergebnisse

Im Links-Rechts-Versuch wurde die Einwirkung von elektrischem Gleichstrom um 5 µ A auf die primäre Knochenheilung untersucht.
Die Versuchsbedingungen wurden überprüft und der methodische Fehler zu Ungunsten der Stromseite in Rechnung gestellt.
Zur Untersuchung wurden röntgenologische, histologische und mikroangiographische Verfahren herangezogen. Zur Ergänzung des morphologischen Bildes wurden Meßzahlen ermittelt.
Bei der histologischen Auswertung konnte unterschiedliches Verhalten der Corticalis beim Heilungsprozeß festgestellt werden.

Auf der Leerseite ging die Knochenheilung zum überwiegenden Teil von periostalen und endostalen Capillarsprossen aus. Die von dem Haverschen System ausgehende Knochenneubildung trug auf der Leerseite kaum zur Auffüllung des Osteotomiespaltes bei. Gleichzeitig wurde auf der Leerseite eine schlechtere Revascularisierung, besonders im distalen Fragment, als auf der Stromseite nachgewiesen (Abb. 23 u. 24, Tafel: 16, S. 73).

Fluoreszenzmikroskopisch konnten auf der Leerseite in unmittelbarer Nachbarschaft der Osteotomie keine doppelt markierten Osteone beobachtet werden (Abb. 39 u. 40, Tafel: 25 u. 26, S. 86 u. 87), vielmehr fraßen sich Bohrköpfe aus entfernteren Corticalisbezirken auf den Osteotomiespalt vor.
Bei gleicher Osteotomiespaltbreite wurde auf der Leerseite an den Fragmentenden Corticalis abgebaut (Abb. 33, Tafel: 22, S. 82). Auf der Stromseite wuchsen Osteone von einer Corticalis durch den Osteotomiespalt in die andere Corticalis ein (Abb. 34, Tafel: 22, S. 82).

Aus den geschilderten Ergebnissen ziehen wir den Schluß, daß auf der Leerseite der Osteotomiespalt im Laufe der Heilung breiter wird. Die Verbreiterung ist auf die Tätigkeit von Osteoclasten zurückzuführen, die an den Fragmentenden die Corticalis abbauen. Dadurch wird die ursprünglich gerade Osteotomie in eine unregelmäßig gezacktverlaufende Linie umgewandelt (Abb. 22, Tafel: 15, S. 70). Auf der Stromseite ist die Resorption an den Fragmentenden weniger stark ausgeprägt. Der Osteotomiespalt auf der Stromseite wird sekundär in geringerem Maße verbreitert (Abb. 21, Tafel: 15, S. 70).

An Hand der verschiedenen Untersuchungsmethoden konnten periostale, endostale und corticale Reaktionen des Knochens und das Verhalten der Gefäße nach beidseitiger Tibiaosteotomie und einseitiger Stromapplikation beobachtet werden.
Die Ergebnisse der verschiedenen Untersuchungsverfahren deuten übereinstimmend darauf hin, daß durch Zufuhr von elektrischem Gleichstrom um 5 µ A nicht nur periostale und endostale Callusbildung, sondern auch die corticale Knochenheilung stimuliert werden kann.

Diskussion

1. Einleitung

Da es bis heute noch keine eindeutige Theorie über die mögliche Beteiligung von elektrischen Strömen bei der Knochenbildung gibt, müssen wir uns darauf beschränken, Einwirkungsmöglichkeiten von elektrischen Potentialen auf die Osteogenese aufzuzeigen. Entstehung und Regeneration des Knochens ist an die Tätigkeit von Zellen gebunden, die nach GEGENBAUER Osteoblasten genannt werden.
Morphologisch sind Osteoblasten durch ihre mehr oder weniger runde Form, einen exzentrisch gelegenen Nucleus und stark basophiles Cytoplasma gekennzeichnet. Sie bilden die organischen Anteile der interzellulären Substanz und sind evtl. an der Mineralisierung beteiligt. Funktionell sind es sekretorische Zellen, die sich in Osteozyten oder auf entsprechende Reize, z.B. Parathormon, in Osteoclasten differenzieren. Neuere Untersuchungen mit markiertem Thymidin, z.B. von KEMBER (1960) bestätigten die Vermutungen von PRITCHARD (1956), daß sich Osteoblasten nicht mehr teilen können. Im stratum cellulare (Kambiumschicht) des Periosts befinden sich zahlreiche Zellen, die eine ausgeprägte Proliferationsfähigkeit besitzen. Diese Osteoblastenvorläufer oder osteogenen Zellen vermehren sich nach einer Fraktur sehr schnell und differenzieren in Osteoblasten.
Kommt es zur knöchernen Konsolidierung einer Osteotomie oder Fraktur, so ist der zeitliche Ablauf der Heilung durch die Steigerung der Osteoblastenaktivität zu beschleunigen.

2. Histogenese und Morphogenese des Knochens

Die für die embryonale Skelettanlage verantwortlichen Zellen leiten sich vom Mesenchym ab. Inwieweit Mesenchymzellen der postfetalen Phase osteogenetische Potenz besitzen, hängt von vielfältigen, teils bekannten, teils unbekannten Faktoren ab (HALL, URIST, HAM).

Allgemein gesagt sind undifferenzierte Bindegewebszellen, die eine latente Kapazität sich zu Osteoblasten zu differenzieren besitzen, im geeigneten Milieu in der Lage, in vivo und in vitro Knochen zu bilden (BASSET, URIST u.a.).

Die Entwicklung von osteogenetischen kompetenten Zellen aus undifferenzierten Mesenchymzellen oder ursprünglich nicht an der Knochenbildung beteiligten Zellen, z.B. des Muskel-, Harnblasen- u.a. Gewebe soll auf dem Prinzip der Induktion beruhen (URIST u.a.). Ähnlich dem embryonalen Induktionssystem soll das die Knochenbildung induzierende System aus induzierenden und darauf antwortenden Zellen bestehen. Eine induzierende Zelle ist demnach eine Zelle, die Kontakt mit dem die Knochenbildung induzierenden System hatte und eine geeignete Zelle veranlaßt, sich in einen Osteoblasten zu differenzieren. Obwohl bis heute das biologische Substrat und der Wirkungsmechanismus dieses

Systems noch unbekannt sind, führen URIST u.a., FRIEDENSTEIN u.HUGGINS die experimentell induzierbare ektopische Osteogenese auf das Bone Induction-Principle zurück.

3. Die Veränderung des Milieu interne des Knochens durch bioelektrische Signale

Die Ergebnisse zahlreicher Untersuchungen verschiedener Arbeitsgruppen deuten auf eine enge Beziehung zwischen Knochenstruktur und bioelektrischen Phänomenen hin.
Um den Stellenwert dieser Beziehung beurteilen zu können, darf man die Tatsache nicht vergessen, daß die Form und Struktur eines Knochens schon lange bevor der Knochen sichtbar wird in den Knochenkernen genetisch determiniert ist. FELL konnte in vitro bei Ausschließung von neuralen, Durchblutungs- und mechanischen Einflüssen zeigen, wie aus embryonalem Knorpelgewebe reifer Knochen gebildet wird.

a) Die Veränderung der Zellumgebung
Die eingangs zusammengefaßten Untersuchungen der Elektrostimulierung der Osteogenese bewiesen, daß knochenbildende Zellen durch eine experimentell erzeugte Veränderung des elektrischen Milieus beeinflußt werden. Die Knochenreaktion ist fest verknüpft mit der Polarität. Elektronegativität führt zur Knochenneubildung und Elektropositivität zu teilweise regressiven Veränderungen in Abhängigkeit vom elektrischen Stromfluß.

Knochenan- und -abbau ist mit gesteigerter Aktivität von verschiedenen Enzymen verknüpft. So enthalten die Osteoblasten große Mengen alkalischer und die Osteoclasten saurer Phosphatasen und anderer lysosomaler Enzyme. Während die Osteoblasten bei gesteigerter Aktivität der alkalischen Phosphatase Knochen neu bilden, bauen die Osteoclasten im sauren Milieu mit Beteiligung der entsprechenden Enzyme den Knochen ab. BASSET vermutet, daß die Osteoblasten in der Umgebung der Kathode aktiver sein können, weil dort auf Grund der Elektrolyte das Milieu alkalischer ist.
Polarität und pH wirken nicht nur auf die Zellen, sondern auch auf die Knochenmatrix. Die Löslichkeit von Kollagen und Calcium-Salzen ist im alkalischen Milieu geringer als im sauren. So wäre die Knochendestruktion an der Anode durch die mit der Elektropositivität einhergehende Säuerung des Milieus erklärlich.

b) Die Veränderung in der extrazellulären Matrix

Ausgehend vom Wolffschen Gesetz der Transformation der Knochen und seiner Neuformulierung durch BASSET wurde das Verhalten von Kollagen im elektrischen Feld untersucht.
BECKER, BASSET und BACHMANN beobachteten in Tropfen säurelöslichen Kollagens bei Strömen zwischen 10^{-6} und 10^{-8} A in der Umgebung der Kathode im polarisierten Licht die Entstehung einer Doppelbrechung. Bei 1 V, 10^{-6} A und Anfangs-pH 4,5 entstand innerhalb von 5 Minuten ein senkrecht zum elektrischen Feld angeordnetes Band. Die Zufuhr von Salzen führte zur Aggregation von parallelen Fibrillen, die rechtwinklig zum elektrischen Feld aus-

gerichtet waren. An der Anode hingegen fehlten die normalen 640 Å Banden der Fibrillen. BASSET beobachtete an der Kathode nicht strukturierte Fibrillen. Mit einem steilen pH-Gefälle (pH 5,5-6) an der Kathode war die Ausbildung von einem Band vergesellschaftet. Die Ausrichtung der Fasern senkrecht zum elektrischen Feld ist insofern überraschend, als bei pH 4 das Kollagenmolekül als Dipol vorliegt, d.h. die Kationengruppen sind positiv und die Carboxylgruppen negativ geladen. Aus diesem Grund würde man eine zum elektrischen Feld parallele Ausrichtung erwarten (YOSHIDKA u. O'KONSIK). Einen kritischen Beitrag zur Diskussion über den Einfluß von schwachen elektrischen Feldern auf das Kollagen stellt die Feststellung von MARINO und BECKER dar, daß die Ausbildung der Banden auf eine Elektrolyse mit resultierender pH-Verschiebung zum sauren Milieu hin zurückzuführen ist. Nach ihrer Meinung sind die druckabhängigen Biopotentiale zu gering, um die Aggregation von Kollagen aus Tropokollagen zu beeinflussen. MARINO und BECKER weisen aber darauf hin, daß die von den Zellen gebildeten Potentiale wirksame Höhe erreichen könnten.
Die unterschiedlichen Ergebnisse führt BASSET auf die verschiedenartigen Methoden zurück. Er vermutet, daß piezoelektrische Biopolymere wie das Kollagen über einen "Autokontrollmechanismus" verfügen, der unabhängig von den Zellen ist. Druck- und dehnungsabhängige Potentiale würden demnach durch Oberflächenpolarisierung Fibrillen abstoßen oder anziehen. Diese Potentiale würden entsprechend der biomechanischen Beanspruchung zum Umbau der extrazellulären Matrix führen, einerseits unabhängig von den Zellen und andererseits die Zellen zur Neubildung oder zum Abbau stimulieren.

Ein weiterer organischer Bestandteil der Knochenmatrix sind Proteinpolysaccharide. Ähnlich wie im Kollagen kann man in den Mukopolysacchariden bei mechanischer Belastung elektrische Potentiale nachweisen (CHRISTIANSEN, JENSEN, VILSTRUP). Saure Mukopolysaccharide tragen im Gegensatz zum Kollagen zahlreiche negative Ladungen.
MATTHEWS vermutet, daß die anionischen Gruppen der Proteinpolysaccharide mit den positiv geladenen Gruppen des Kollagens elektrostatische Bindungen eingehen. Die Ausbildung dieser Verbindungen könnte durch elektrische Felder beeinflußt werden. Eine solche Verbindung wäre nach BASSET gegenüber einer Verformung sehr empfindlich und könnte mechanische Kräfte in elektrische Signale umwandeln.

c) Verschiebung der Ionenkonzentrationen durch Anode und Kathode

Der Mineralgehalt des Knochens wird nicht nur von Ernährung, Lebensalter, Hormonen und Vitaminen beeinflußt. Heute scheint es experimentell gesichert zu sein, daß über biophysikalische Regelkreise die Knochenstruktur den jeweiligen biomechanischen Anforderungen angepaßt wird.
Der postulierte Regelkreis kennt zwei wesentliche Elemente: 1. mechanische Größen, die
2. in elektrische Signale umgewandelt werden. Die Signale führen u.a. zu meßbaren Veränderungen des elektrischen Potentials und des pHs. Die Veränderung des "Milieu interne" im Knochen wirkt auf Zellen und extrazelluläre Matrix.
Auf- und Abbau der extrazellulären Matrix ist mit Veränderungen des Kalksalzgehaltes verbunden. Die

"indirekte"Wirkung von bioelektrischen Signalen auf Knochenminerale müssen wir von einer direkten Wirkung des elektrischen Signals auf anorganische Salze unterscheiden.
JAHN vermutet an der Kathode eine erhöhte Konzentration von Calcium- und Phosphat-Ionen, die durch einen elektrophoretischen Effekt an dieser Elektrode zustande kommt. An der Anode sollen Natrium- und Chlor-Ionen kumulieren.
Gesetzt den Fall, ein solcher Mechanismus würde die Ionen sortieren, könnten vermehrt amorphe Kalksalze auskristallisieren.

4. Das Biopotential und die Frakturheilung

a) Das Druckpotential und die Frakturheilung

Charakteristisch für die nicht therapeutisch beeinflußte Frakturheilung und auch die konservative Behandlung von Knochenbrüchen ist die Ruhigstellung und Immobilisierung der verletzten Extremität. Die Druckosteosynthese bringt die Fragmente parallel zur anatomischen Knochenachse in eine permanente Kompression, die mit dem Fortschreiten der knöchernen Durchbauung des Bruchspaltes abnimmt (PERREN u.a.).
Ob die permanente Längskompression zu einem Biopotential führt ist noch nicht geklärt.
Unabhängig von der Art der Frakturbehandlung treten in der ersten Phase der Heilung keine Druckpotentiale auf. Ob nach dem Eintreten der knöchernen Konsolidierung und normaler Belastung der operierten Extremität die Osteosyntheseplatte die mechanische Beanspruchung so weit neutrali-

siert, daß keine Druckpotentiale auftreten, wird z.Zt. untersucht.
Beide Behandlungsverfahren führen zur Knochenatrophie individuell unterschiedlichen Grades. Ursächlich hierfür ist nach heutiger Ansicht das fehlende Druckpotential.

Kann ein Druckpotential für die Frakturheilung von Bedeutung sein?
Wir gehen davon aus, daß die durch mechanische Kräfte bedingte Ladungstrennung zu einem elektrischen Potential führt, das über die Stimulierung kompetenter Zellen Knochenan- und -abbau regelt. Solange ein Knochen nicht belastet wird, kann kein Druckpotential auftreten. Die fehlenden physiologischen Reize vermindern die Knochensubstanz. Der von BASSET formulierte feed-back-Mechanismus bezüglich mechanisch induzierter elektrischer Potentiale, kann bei der Frakturheilung nicht wirksam werden.
Die experimentellen Untersuchungen verschiedener Autoren beweisen, daß Gleichstrom geringer Stärke die Osteogenese beeinflußt. Gelänge es, das Druckpotential bei der Frakturheilung adäquat künstlich zu erzeugen, so würde man die Knochenatrophie verhindern und damit die Reaktionslage des "reizlosen" Knochens von minus nach plus umpolen.

b) Die Bildung des Osteoids

Wir müssen aber berücksichtigen, daß die Fraktur, die den Reiz zur Regeneration auslöst, im verletzten Knochenbezirk ein elektrisches Gleichspannungs-

potential zur Folge hat (FRIEDENBERG u. BRIGHTON, FRIEDENBERG u. SMITH, BECKER u. MURRAY). Die Untersuchungen von BECKER und MURRAY geben uns gewisse Einsichten über die Wirkung von Gleichstrom auf die Osteogenese bei Fröschen. In vitro konnten sie ähnliche morphologische Veränderungen der kernhaltigen Froscherythrozyten induzieren, wenn sie Zellen des peripheren Blutes in Zellkammern schwachen elektrischen Strömen aussetzten. Besonders interessant ist der Anstieg des RNS-Gehalts in den elektrisch stimulierten Zellen. Als Ursache vermuten sie die Freisetzung eines ursprünglich blockierten Operons und die Aktivierung der m-RNS durch Lösung von Wasserstoffbrückenbindungen.
BASSET und HERRMANN setzten 3-T-6 Mäusefibroblasten einem konstanten elektrischen Feld von 1000 Volt/cm aus. Die DNS und Kollagensynthese wurde mit radioaktiv markierten Aminosäuren gemessen und eine signifikante Steigerung der zellulären Syntheseleistung festgestellt. Bei der elektronenmikroskopischen Untersuchung der Zellen wurden entsprechende Veränderungen der Ultrastrukturen nachgewiesen.

BOZOKY, KISZELY, HOFFMANN und LADIK gelang es in vitro die Mitoserate von embryonalen Hühnerherzfibroblasten durch elektrische Felder zu steigern.

Vergleichen wir nun die in vivo beobachtete Stimulierung der Osteogenese durch elektrische Ströme mit den Ergebnissen in vitro, so ist es ge-

rechtfertigt, künstlich zugeführten elektrischen Potentialen eine die Frakturheilung beschleunigende Wirkung zuzuschreiben. Die Heilung kann beschleunigt werden, wenn es gelingt, die an ihr beteiligten Faktoren günstig zu beeinflussen. Nach WINTER sind das die Zellproliferation, Zellbewegung und die Synthese von Grundsubstanzen. Vermehrte Synthese setzt eine ausreichende Zellernährung, besonders eine entsprechende Sauerstoffversorgung voraus. Bei hoher Sauerstoffspannung differenzieren osteogene Zellen im Osteoblasten, bei niedriger im Chondroblasten (BASSET und HERRMANN).
BRIGHTON und KREBS maßen im Frakturcallus eine niedrige Sauerstoffspannung. Die Erhöhung der Aktivität der Laktatdehydrogenase im Callusgewebe deutet auch auf einen anaeroben Stoffwechsel hin.
Im Gegensatz dazu ist im normalen Knochen die Sauerstoffspannung hoch.
JOHNSON, TRUETA, RHINELANDER und HARRIS u.a. konnten in experimentellen Untersuchungen nachweisen, daß schon wenige Tage nach der Fraktur im geschädigten Knochenbezirk zahlreiche neue Kapillaren gebildet werden. Die Autoren stellten fest, daß die ausreichende Vascularisierung eine Voraussetzung zur Knochenbruchheilung ist.
Wie ist nun die verminderte Sauerstoffspannung auf der einen Seite mit dem von vielen Autoren und auch von uns beobachteten Anstieg der Vascularisierung im heilenden Knochen in Einklang

zu bringen?
Ist der Sauerstoffbedarf der knochenbildenden Zellen größer als das Angebot oder ist die Stimulierung der Osteogenese durch ein elektronegatives Potential zum Teil auf eine herabgesetzte Sauerstoffkonzentration zurückzuführen? (BRIGHTON, FRIEDENBERG und BLACK).

BASSET vermutet, daß langsamer Blutstrom, z.B. in den tieferen Schichten der Corticalis zu einem elektropositiven Potential gegenüber einem relativ elektronegativen Potential in besser durchbluteten Corticalisbezirken führt.
Angiographisch ließ sich in der vorliegenden Untersuchung im elektronegativ aufgeladenen Frakturbezirk eine bessere Vascularisierung als auf der Leerseite nachweisen.
Daraus kann man aber nicht unbedingt Rückschlüsse auf die Sauerstoffspannung im Gewebe ziehen. Nur wenige µ von einer Capillare entfernt, fällt die Sauerstoffkonzentration steil ab (SILVER). HAM stellte 1952 fest, daß im Lamellenknochen die Osteozyten ca. 100 µ von den Haver'schen Gefäßen entfernt liegen. Die ausreichende Versorgung der Knochenzellen mit Sauerstoff und Nährsubstrat wird durch Caniculi gewährleistet, die mit den Gefäßen in Verbindung stehen.
Die Frage, ob Knorpel und Knochen unter anaeroben Stoffwechselbedingungen (BRIGHTON u. KREBS) gebildet werden, oder die osteogenen Zellen im sauerstoffreichen Milieu in Osteoblasten und im sauerstoffarmen in Chondroblasten (BASSET u. HERRMANN, HAM) differenzieren, muß offen bleiben. Obwohl BRIGHTON, FRIEDENBERG und BLACK auf

der einen und BASSET auf der anderen Seite bezüglich der Rolle der Sauerstoffkonzentration bei der Knochenbildung entgegengesetzte Meinungen vertreten, glauben beide Gruppen, daß elektrische Potentiale die Sauerstoffspannung in der von ihnen für günstig befundenen Richtung beeinflussen.
Das Problem könnte gelöst werden, wenn über die Bedeutung des Sauerstoffs für die Differenzierung der osteogenen Zellen Klarheit herrscht. Anschließend müßte geprüft werden, inwieweit die Mikrozirkulation und das Sauerstoffangebot im Knochen durch elektrische Ströme beeinflußt werden kann. Daß Strömungs- und Druckpotentiale in der extrazellulären Matrix und Knochenzellpotentiale als Variable eines Regelkreises Knochenneubildung und -abbau dirigieren, ist heute eine allgemein akzeptierte Theorie, deren einzelne Bausteine zum Teil einer heftigen Diskussion ausgesetzt sind.

c) Die Mineralisierung des Osteoids

In die von den Knochenzellen gebildete organische Matrix werden Calcium- und Phosphat-Ionen eingebaut. Über den Mechanismus der Mineralisierung bestehen zahlreiche, teilweise sich widersprechende Theorien. Die eine besagt, daß über extrazelluläre Mechanismen eine Übersättigung von Calcium- und Phosphat-Ionen erreicht wird, die zur Präzipitation von amorphen Kalk-

salzen im Kollagen führt. Das Calciumphosphat soll sich mit den für das Kollagen spezifischen Aminosäuren Hydroxyprolin und Hydrolysin (SCHIFTMANN, MARTIN, MÜLLER) verbinden. GLIMCHER und KRANE nehmen an, daß nach enzymatischer Phosphorylierung die Kollagenfasern als Nucleationskeim für Ablagerung von Knochensalzen dienen.
Andere Autoren (SCHIFTMANN, MARTIN und MÜLLER, HANCOX, BOOTHROYD, TERMINE, POSNER und BOURNE) meinen, daß zuerst amorphe Calciumsalze gebildet werden, aus denen anschließend Apatitkristalle entstehen. Nach SOBEL sollen Chondroitinsulfat und andere saure Mukopolysaccharide aus der Mineralisation beteiligt sein. RUBIN und SAFFIR bestätigen diese Vermutung, daß nicht nur der Faserproteinanteil der organischen Matrix, sondern auch die gallertartige Grundsubstanz für das Kristallwachstum im Knochen Bedeutung besitzt. Ihre Hypothese setzt ein physikalisch chemisches Modell voraus, nach dem in einer mit Calcium-Phosphat-Ionen übersättigten Lösung sich diese Ionen in der gallertartigen Matrix niederschlagen. Diffundieren die Mineralien aus dem Gel heraus, können sie sich mit Seitenketten des Kollagenmolekül verbinden.
Nach BACHRA werden an den Seitenketten des Kollagenmoleküls Calcium-und Phosphat-Ionen unspezifisch in Form von Trauben so lange gebunden, bis aus ihnen über Nucleationskeime Apatitkristalle entstanden sind. Die Aminosäuren der Seitenketten sollen so elektrisch geladen sein, daß die Ionen in der für die Entstehung eines Kristallisationskeims notwendigen Konzentrationen festgehalten werden. Diesen Vorgang nennt man Katalyse,

da die Energiebarriere, die zur Entstehung eines Nucleationskeims überwunden werden muß, durch lokale Konzentrationserhöhung von Calcium- und Phosphat-Ionen herabgesetzt wird. Nach EANES und POSNER würden amorphe Kalksalze, blieben sie mit der Gewebsflüssigkeit in Kontakt, wieder in Lösung gehen. Sie vertreten eine andere Theorie, die besagt, daß die Osteoblasten bei der Mineralisierung des Kollagens eine wichtige Rolle spielen. Nach ihrem Modell wird mit Hilfe von Ionenpumpen intrazellulär eine Übersättigung von Calcium- und Phosphat-Ionen erreicht, die zur spontanen Präzipitation von amorphen Kalksalzen führt. Nach Sezernierung ordnet sich das Calciumphosphat selbst in Apatitkristallen an.
Elektronenmikroskopische Untersuchungen deuten daraufhin, daß intrazellulär ein Kristallisationskeim für Hydroxylappatit gebildet wird, der in die extrazelluläre Matrix abgegeben wird (TAVES). Der Kristallisationskeim soll aus einem Calciumphosphoprotein-Komplex bestehen, der von dem Golgi-Apparat gebildet wird. Die für die Verkalkung erforderlichen Phosphationen würden durch die Aktivität der Phosphatase aus ihrer Proteinbildung freigesetzt (BOURNE). SHAPIRO und GREENSPAN vermuten, daß die Mitochondrien die anorganischen Ionen intrazellulär anhäufen. Dieser Vorgang ist ebenso energieabhängig wie die Freisetzung der im Zytoplasma eingelagerten Ionen. Vitamin D und Parathormon sind an der Regulierung der Freisetzung beteiligt.
Die Ergebnisse von EANES, POSNER, TAVES, SHAPIRO und GREENSPAN deuten darauf hin, daß diejenigen Zellen, die organische Matrix bilden, auch für die Mineralisierung verantwortlich sind.
Voraussetzung für die Mineralisierung ist eine verkalkungsfähige Matrix und eine intrazelluläre Kon-

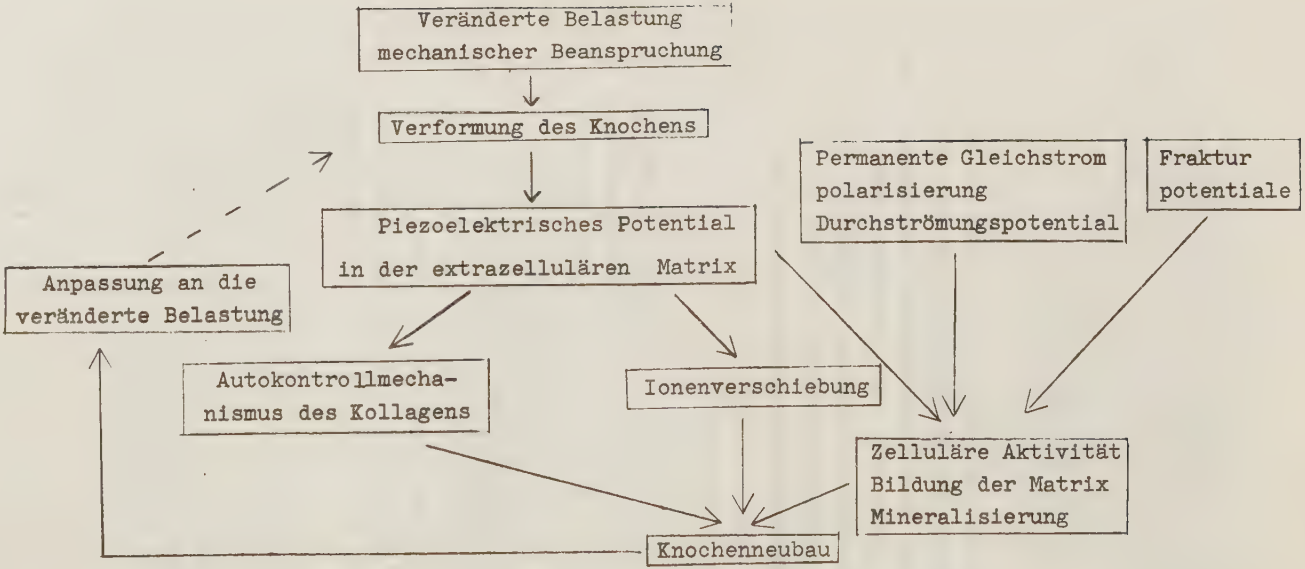


Abb. 56

Modifiziert nach BASSET und JAHN

Schematische Darstellung des biophysikalischen Regelkreises des Knochenstoffwechsels

Zusammenfassung

Nach einer einleitenden Besprechung der bioelektrischen Phänomene am Knochen und Untersuchungen auf dem Gebiet der Elektroosteologie wurden eigene Experimente am Kaninchen beschrieben. Batteriegleichstrom (5 μ A) wurde auf Tibiaquerosteotomien angewandt, die durch metallische oder Kunststoff-Osteosyntheseplatten unter Druck fixiert wurden. Im Links-Rechts-Versuch konnte der zeitliche Ablauf der primären angiogenen Knochenheilung beobachtet werden.
An Hand von röntgenologischen, angiographischen, histologischen, fluoreszenzmikroskopischen und polarisationsmikroskopischen Untersuchungen wurde eine Beschleunigung der knöchernen Heilung in der durchströmten Tibia festgestellt.
Die mikroskopische Messung der Druckspaltweiten ergab auf der durchströmten Seite kleinere Werte als auf der Kontrollseite. Die Versuchsbedingungen ceteris paribus wurden durch eine Kontrollserie bestätigt. Die Ergebnisse wurden im Lichte der biophysikalischen Theorie der Osteogenese interpretiert.

Literaturverzeichnis

1. ALLGÖWER, M. : Funktionelle Anpassung des Knochens auf physiologische und unphysiologische Beanspruchung. Langenbecks Arch.klin.Chirurgie 319, 382 (1967)

2. ALLGÖWER, M. M.MÜLLER, R.SCHENK, H.WILLENEGGER : Biomechanische Prinzipien bei der Metallverwendung am Knochen. Langenbecks Arch.f.klin.Chirurgie 305 (1963/64) 1

3. ANDERSON,J.C., C.ERIKSON : Electrical properties of wet collagen. Nature 218, 166 (1968)

4. ANDRÉ,T. : Studies on the distribution of tritiumlabeled dihydrostreptomycin and tetracyclin in the body. Acta Radio.Suppl. 142, 1 (1956)

5. ATHENSTAEDT,H. : Permanent electric polarisation and pyroelectric behariour of the vertebrate skeleton. V.The appendicular skeleton of the vertebrates. VI.The appendicular skeleton of men. Z.Anat.Entwickl.-Geschichte 131, 1 u. 2 (1970)

6. BACHRA,B.N. : Some molecular aspects of tissue calcification. Clin.Orthop. 51, 199 (1967)

7. BACHRA,B.N., H.R.A.FISCHER : The effect of some inhibitors on the nucleation and crystal growth of apatite. Cole.Tiss.Res.3, 348 (1969)

8. BASSETT,C.A.L. : Current concepts of bone formation. J.Bone Jt Surg. 44-A, 1217 (1962)

9. BASSETT,C.A.L. : Electrical effects in bone. Sci.Amer.213,18 (1965)

10. BASSETT,C.A.L. : Electromechanical factors regulating bone architecture. In: Calcified Tissues 1965. Proc. 3rd Europ.Symp. Calcif.Tiss.p.78.Ed by Fleisch, H., Blackwood,H.J.J., Owen,M. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1966

11. BASSETT,A.C.L. : The effect of electrical currents on bone structure. J. dent. R. 44, 1112 (1965)

12. BASSETT,C.A.L. : The biological significance of piezoelectricity. Calcif.Tiss.Res.1, 252 (1968)

13. BASSETT,C.A.L., R.O.BECKER : Generation of electrical potentials by bone in response to mechanical stress. Science 137, 1063 (1962)

14. BASSETT,C.A.L., I.HERRMANN : Influence of oxygen concentration and mechanical factors on differentation of connective tissues in vitro. Nature 190. 460 (1961)

15. BASSETT,C.A.L., R.J.PAWLUK, R.O.BECKER : Effects of electrical currents on bone in vivo. Nature 204, 652 (1964)

16. BASSETT,C.A.L. : Biophysical principles affecting bone structure. The biochemistry and physiology of Bone-London, New York 1972 in Bourne (ed)

17. BECKER,R.O. : The bioelectric factors in amphibian limb regeneration. J.Bone Jt.Surg. 43A 643 (1961)

18. BECKER,R.O., C.A.L.BASSETT, C.H.BACHMANN : Bioelectric factors controlling bone structure. Bone biodynamics Boston Little-Brown (1964)

19. BECKER,R.O., C.A.L.BASSETT, C.H.BACHMANN : The bioelectric control system regulating bone growth. Proc.Int.Symp. on Biodyn.of Bone. Little-Brown (1964)

20. BECKER,R.O. : Electron paramagnetic resonance in non-irradieted Bone. Nature 199, 1304 (1963)

21. BECKER,R.O., F.M.BROWN : Photoelectric effects in human bone. Nature 206, 1325 (1965)

22. BECKER,R.O., BACHMANN : Letter to the editor. Clin.Orthop. 43, 251 (1965)

23. BECKER,R.O., A.A.MARINO : Electron paramagnetic resonance spectra of bone and its mayor components. Nature 210,583 (1966)

24. BECKER,R.O., D.G.MURRAY : The electrical control system regulating frecture healing in amphibias. Clin.Orthop.73,169 (1970)

25. BOURNE,G.H. : Phosphatase and Calcification in Bourne. The biochemistry and physiology of bone, New York - London 1972

26. BOZOKY,L., G.KISZELY, T.A.HOFFMANN, J.LADIK : Effect of electrostatie fields on cell mitosis. Nature 199, 1306 (1963)

27. BRIGHTON,C.T., B.HEPPENSTALL : Oxygen tension in zones of the epiphyseal plate the metaphysis and diaphysis. J.Bone Jt.Surg. 53 A, 719 (1971)

28. BRIGHTON,C.T., Z.B.FRIEDENBERG, J.BLACK : Cellular effect of applied electric current in connedire tissue. 12.Congress Sicot Tel Aviv 1972, 234

29. BRIFHTON,C.T., A.G.KREBS : Oxygen tension of healing fractures in the rableit. J.Bone Jt.Surg. 54 A, 323 (1972)

30. CERQUIGLINI,S., M.CIGNITTI, M.MARCHETTI. A.SELLER : Zitat bei Basset: Biophysical Principles Affecting Bone Structure

31. CHARNLEY,J. : The closed treatment of common fractures. Edinburg-London: Livingstone 1961

32. CIESZYNSKI,T. : Electric factor in bone regeneration. Symp.Biol.Hung.7, 269 (1967)

33. CIESZYNSKI,T. : Influence of negative elektricity on infected callus and osteitis. Acta morph.Aca.Sci.Hung. 15, 309 (1967)

34. CIESZYNSKI,T. : Stimulation and suppression of bone regeneration by electrical polarisation. Calc.Tiss.Res. 4 (Suppl.) 134 (1970)

35. COCHRAN,G.V.B., R.J.PAWLUCK u. C.A.L.BASSET : Electro-mechanical characteristics of bone under physiologie moister conditions. Clin.Orthop. 58, 249 (1968)

36. DANIS,R. : Théorie et pratique de l'osteo-synthèse. Paris, Masson 1949

37. DIGBY,P.S.P. : Zitat bei Bassett: Ciophysical Principles Affecting Bone Structure

38. DIGBY,P.S.P. : Mechanism of calcification in mammalian bone. Nature 212, 1250 (1960)

39. DOTY,S.B. : Zitat bei Justus,R., Luft,J.H. Cole Tiss.Res. 5, 222 (1970)

40. DÜRR,W. : Knochenanbeu und Knochenzement. Habilitationsschrift 1971

41. EANES,E.D., J.B.TERMINE, D.S.POSNER : Amorphons Calzium phosphate in skeletal tissues. Clin.Orthop. 53, 223 (1967)

42. FELL,H.B. : Skeletal developement in tissue culture, in Biochemistry and physiology of Bone (ed Bourne) New York 1956

43. FRIEDENBERG,Z.B., C.T.BRIGHTON : Bioelectric Potentials in Bone. J. Bone Jt. Surg. 48 A, 915 (1966)+

44. FRIEDENBERG,Z.B., M.KOHANIM : The effect of direct current on bone. Surg. Gynecol. Obst. 127,97 (1968)

45. FRIEDENBERG,Z.B., G.SMITH HOWARD : Electrical potentials in intact and fractures tibia. Clin.Orthop. 63, 222 (1969)

46. FRIEDENBERG,Z.B., N.H.DIDIZIAN, C.T.BRIGHTON : Stimulatinn of fractur healing by direct current in the rabbit fibula. J. Bone Jt. Surg. 53 A 1400 (1971)

47. FRIEDENBERG,Z.B., C.T.BRIGHTON : Stimulation of fracture heating by electric current. 12. Congress sicot Tel Aviv (1972) 233

48. FRIEDENBERG,Z.B., M.C.HARLOW u. C.T.BRIGHTON : Healing of non unions of the medial malleolus by means of direct current.
7 Case Report, J.Trauma 11, 10 (1972)

49. FRIEDENSTEIN,A.Y. Induction of bone tissue by tran - sitional epithelium.
Clin.Orthop. 59, 21 (1968)

50. FROST,H.M. : Preparation of thin undercalci- fied bone sections by rapid manu- al method.
Stein Technol.33, 273 (1958)

51. FROST,H.M., A.R.VILLANEUVA Measurement of osteoblastic : activity in diaphyseal bone.
Stain Technol.35, 179 (1960)

52. FROST,H.M. : Tetracyclin-based histological analysis of bone remodeling.
Cale Tiss. Res. 3, 211 (1969)

53. FUKADA,E., J.Yasuda On the piezoelectric effect of : bone.
J.Phys.Soc.Jap.12,1158 (1957)

54. FUKADA,E., J.YASUDA Piezoelectric effects in Collagen. : Jap.J.Appl.Phys.3,117 (1964)

55. FUKADA,E. : Piezoelectricity in crystalline high polymers.
Rep.Kobayashi Scientifie Res.Lob. 9,45 (1959)

56. GLIMCHER,M.J. : Molecular bidogy of minerolized tissues with particular reference to bone.
Rewies of modern physies 31,359 (1959)

57. GLIMCHER,M.J. S.J.KRANE : Studies of the interactions of collagen and phosphates. In: Radivist and Bone p.393 Oxfort Blackwell 1962

58. GÖHRE,E. : Der zeitliche Ablauf der endosta- len Knochenbildung in der Kanin- chentibia, hervorgerufen durch Gleichstrom.
Inaugural-Dissertation, Freie Uni- versität Berlin 1971

59. GOLDNER,I. : bei Romlis,B. Histologische Technik (1968)

60. HALL,B.K. : The origin of Cartilage and bone from common stem cells. Cale Tiss.Res.4 (Suppl) 147 (1970)

61. HALL, B.K. : Histogensis and morphogenisis of bone. Clon.Orthop. 74, 249 (1971)

62. HALL,B.K. : Differentiation of cartilage and bone from common germinal cells. J.Exp.Zool. 173, 383

63. HAM,A.W. : Textbook of histiology. 1.ed.Lippincott, Philadelphia

64. HAM,A.W. : Repair and transplantation of bone. In:The biochemistry and physiology of bone III ed.Bourne 1971 New York - London

65. HAMBURG,H.J., I.WATSON, A.SIRYER, D.J.B.ASHLEY : Effect of micoramp.electrical currents on bone in vivo and its measurement using Sr 85 uptake. Nature 231, 190 (1971)

66. HANCOX,N.M. u. B.BOOTHROYD : Electron mickrocopy of the early stages of osteogenesis. Clin.Orthop.40, 153 (1965)

67. HARRIS,W.H., D.E.TRAVIS, U.FRIBERG, E.RODIN : The in vivo Inhibition of Bone Formation by Alizarin Red S. J.Bone Jt.Surg. 46A, 493 (1964)

68. HARRIS,W.H., R.H.JACKSON, J.JOWSEY : The in vivo D/istricretion of Tetracyclines in Canine Bone. J.Bone,JT.Surg. 44 A, 1308 (1967)

69. HARRIS,W.H., E.A.HAYWOOD, J.LAVORGNA : Spatial and Temporal Variations in Cortical Bone Formation in Dogs J.Bone Jt.Surg. 50A, 118 (1968)

70. HEIDENHAIN,R. : bei Romeis,B.Histologische Technik

71. HIRSCH,Th.v., J.W.BOELLARD : Metharcrylsäure als Einbettungsmittel in der Histologie. Z.wiss.micors.hist.techn.64,23 (1959)

72. HUGGINS,C.B. : The formation of bone under the influence of epithelium of uri narg tract. Clin.Orthop. 59 A (1968)

73. JAHN,T. : A possible mechanism for the effect of electrical potentials on apatit formation in bone.
Clin.Orthop. 56, 261 (1968)

74. JØRGENSEN,T.D.: The effect of electric current on the healing time of crural fractures.
Acta orthop. Scand. 43, 421 (1972)

75. JOHNSON,L.C. : Morphologie analysis in pathology. The kinetics of deseases and general biology of Bone.
Bone Diodynamics. Boston Little-Brown 1964

76. JUSTUS,R.
J.H.LUFT : A mechanochemical hypothesis for bone remodelling indured by mechanical stress.
Cale Tiss. Res. 5, 222 (1970)

77. KEMBER,N.F. : Cell population kinetics of bone growth. The first ten years of autoradiographie studies with triated thymidine.
Clin.Orthop. 76,213 (1971)

78. KRAUS,W.u.
F.LECHNER : Die Heilung von Pseudarthrosen und Spontanfrakturen durch strukturbildende elektrodynamische Potentiale.
Münch.med.Wschr. 114, Nr.42, 1814 (1972)

79. KREYZIG,E. : Statistische Methoden und ihre Anwendung. 3. Aufl. Göttingen 1970

80. KROMPECHER,S. : Die Knochenbildung.
Jena,Fischer 1937

81. LAVINE,L.S.,
S.LEROY,
I.LUSTRIN,
M.H.SHAMOS,
R.RINALDI u.
A.LIBOFF : Electric anhancement of bone healing.
Science 175, 1118 (1972)

82. LAVINE,L.S.,
I.LUSTRIN,
M.H.SHAMOS,
M.L.MOSS : The influence of electric current on bone regeneration.
Acta orthop. Scand. 42, 305 (1971)

83. LEVY,D.D.,
D.RUBIN : Inducing bone growth in vivo by pulse stimulation.
Clin.orthop. 88, 218 (1972)

84. MARINO,A.A.
R.D.BECKER : Mechanically induent free radicals in bone.
Nature 218, 466 (1962), 84, 85 u. 86

85. MARINO,A.A., R.D.BECHER : Piezoelektric effect and growth control in bone. Nature 228, 473 (1970)

86. MARINO,A.A., R.D.BECHER : The effect of electric current on rat tail tendon collagen in solution. Cale.Tiss. Res. 4, 330 (1970)

87. MATTHEWS,J.L. : Ultrastructure of calcifying tissues. Am.J.Anat. 129, 451 (1966)

88. MAYR,P. : bei Romeis,B. Histologische Technik (1968)

89. MILCH,R.A. D.P.RALL, J.E.TOBIE : Bone localisation of the tetracyclines. J.Nat.Cancer Institute 19,87 (1957)

90. MÜLLER,M.E., S.M.PERREN : Callus u. primäre Knochenheilung. Mschr. f. Unfallklinik 76, 442-454 (1972)

91. MÜNZENBERGER,K.J., M.GEBHARDT : Tetracyclin und Knochenkollagen. Arch.orthop.Unfall Chir. 67, 211 (1970)

92. MÜNZENBERGER,K.J., H.RÖSSLER : Bedeutung die Knochenminerale für die Physiologie, Pathophysiologie und Klinik des Knochens haben. Med.Wschr. 95, 33: 1693 (1970)

93. POSNER,A.S. : Relationship bet ween diet and bone mineral ultrastructure. Federation Proceeting 26, 1717 (1967)

94. PRITCHARD,J.J. : General anatomy and histology of bone P.1-27. The osteoblast P 179-213. In: The biochemistry and physiology of bone, ed Bourne 1956 New York

95. Rahn,B.A. u. S.M.PERREN : Alizarinkomplexon-Fluochrom zur Markierung von Knochen und Dentinanbau. Experimentia 28/2,180

96. RAHN,B.A., P.GALLINARO, A.BALTENSPRENGER: Primary Bone Healing. J. Bone Jt.Surg. 53-A, 783 (1971)

97. RHINELANDER,F.W.: Circulation of bone. In:The biochemistry and physiology of bone II (ed. Bourne) New York-London 1972

98. RHINELANDER,F.W.: R.A.BARAGRY Microangiography in bone healing I. Undisplaced closed fractures. J.Bone JT. Surg. 44 A, 1273 (1962)

99. RHINELANDER,F.W., R.S.PHILIPPS, W.STEEL u. J.C.MEAR : Microangiography in bone healing II. Displaced closed fractures. J.Bone Jt. Surg. 50 A 643 (1968)

100. RICHEZ,I., A.CHAMAY, L.BIELER : Bone Changes due to pulses of direct electric microcurrent. Virchows Arch.Abt.A Path.Anat. 357, 11 (1972)

101. RINNE-BEREK : Anleitung zu optischen Untersuchungen mit dem Polarisationsmikroskop. 2. Aufl. Stuttgart 1953

102. ROMEIS,B. : Mikroskopische Technik. 16. Aufl. München-Wien 1968

103. RUBIN,B., A.SAFFIR : Calcification and the ground substance. Preacipitation of calcium phosphate crystals from a nutrient gel. Nature 225, 78 (1970)

104. RUIJTER,I.H.C. : bei Romeis,B. Histologische Technik.

105. SCHENK,R., H.WILLENEGGER : Zur Histologie der primären Knochenheilung. Langenbecks Arch.f.klin.Chirurgie Verhandlungen 81. Tagung 1964, 440

106. SCHIFFMANN,R., G.R.MARTIN, E.J.MÜLLER : in Biological Calcification. (H.Schraer ed.) 727, Appelton New York

107. SHAMOS,M.H. : Piezoelectric phenomena in Bon. 12. Congress Sicot Tel Aviv 1972 S. 239

108. SHAMOS,M.H., L.S.LAVINE, M.I.SHAMOS : Piezoelectric Effect in Bone. Nature 197, 81 (1963)

109. SHAMOS,M.H., L.S.LAVINE : Physical Bases for Bioelectric Effects in mineralized tissues. Clin.orthop. 35, 177 (1964)

110. SHAPIRO,I.M., J.S.GREENSPAN : Are mitochandria directly involved in biological mineralisation. Calc.Tiss.Res.3, 100 (1969)

111. SILVER,J.A. : Some observations on the cerebral cortex with an ultramicormembrane covered oxygen electrode. Med.Electron Biol.Engny 5, 377 (1966)

112. SOBEL,A.E., M.BURGER, S.MARTIN : Mechanisms of nuclei formation in mineralizing tissues. Clin.orthop. 17, 103 (1960)

113. SPALTEHOLZ,W. : Über das Durchsichtigmachen von menschlichen und tierischen Präparaten und seine theoretischen Badingungen. 2. Auflage 1914, Leipzig

114. SPECHA,G., E.VOLLE : Piezoelektrische Meßgeräte. Messen und Prüfen, Heft 2/3, 14 (1967)

115. STEINBERG,M.E., A.BOSCH, A.SCHWAI, R.GLAZER : Electrical Potentials in stressed Bone. Clin.orthop. 61, 296 (1968)

116. STEINBERG,M.E., J.C.BUSENKELL, R.E.WERT, J.BLACK, E.KOROSTOFF : Piezoelectric properties of whole and selectioned bone. 12. Congress Sicot Tel Aviv 1972, 237

117. STEWART,D.J. : The re-incorporation in calcified tussues of tetracycline released following its deposition in the bone of rats. Arch.Oral.Biol. 18 (6), 759 (1973)

118. TAVES,D.R. : Mechanism of calcification. Clin.orthop. 42, 207 (1965)

119. TAVES,D.R., R.D.REEDY : A structural basis for the transphosphorylation of Nucleotides with hydroxyapatite. Calc.Tiss. Res. 3, 284 (1969)

120. TERMINE,J.D., R.F.WUTHIER, A.S.POSNER : Amorphons-crystalline mineral changes during and periostal bone formation. Proc.Soc.Exp. Biol.Med. 125, 4, 1967

121. TRUETA,I., V.P.AMATO : The vascular contribution to ostegenesis. J.Bone Jt. Surg. 42 B, 571 (1960)

122. URIST,M.R. : Recent advantages in physiology of calcification. J.Bone Jt. Surg. 46 A, 889 (1964)

123. URIST,M.R., Th.A.BOWELL : The newly deposited mineral in cartilage and bone matrix. Clin.orthop. 50, 291 (1967)

124. URIST,M.R. P.H.HAY, F.DUBUC, K.BURING : Osteogenic Competence. Clin. Orthop. 64, 194 (1969)

125. WEIGERT,M. : Die Förderung der Osteogenese durch induktiven Wechselstrom. Z.Orthop. 107, 562 (1970)

126. WEIGERT,M. : Die Stimulierung der Osteogenese durch elektrischen Strom. Habilitationsschrift, Freie Universität Berlin 1971

127. WEIGERT,M., J.MÜLLER : Die Beeinflussung der Knochenbruchheilung durch Gleich- und Wechselstrom. Sonderdruck aus Verhandlungen der DGOT, Kiel 1970

128. WEIGERT,M., C.WERHAHN, M.MÜLLING : Beschleunigung der knöchernen Heilung von Osteotomien an Schafen durch elektrischen Strom. Z.Orthop. 110,959 (1972)

129. WEIGERT,M., P.VENOHR, C.WERHAHN : Versuche zur Beschleunigung der Pseudarthrosenheilung an Kaninchentibien im Rechts-Links-Versuch durch elektrischen Strom. Langenbecks Arch.Klin.Chir.329,1016 (1971)

130. WEIGERT,M., P.VENOHR, C.WERHAHN : Szintigraphie beim Elektrokallus. (In Vorbereitung)

131. WEIGERT,M., C.WERHAHN, H.MELLEROWICZ, R.BANDOW : Stimulation of longitudinal growth and fracture healing by electrical implants. 12. Congress Sicot TelAviv,p.471(1972)

132. WEIGERT,M., C.WERHAHN, H.MELLEROWICZ : Acceleration of fracture healing by electric current. 9th European Symposium on Calcified Tissues, Baden 1972

133. WEIGERT,M., C.WERHAHN, R.BANDOW, H.MELLEROWICZ : Knochenpotentiale bei der elektrischen Stimulation. Z.Orthop., Band 111, Heft 5, 778 (1973)

134. WEIGERT,M., C.WERHAHN, H.MELLEROWICZ, J.MÜLLER : Die Beeinflussung der knöchernen Heilung von Femurpseudarthrosen durch elektrischen Strom . G.Lepoldina Callus Symposion Leipzig 1973

135. WEIGERT,M., J.MÜLLER. H.MELLEROWICZ, C.WERHAHN : Bioelektrische Phänomene am Knochen. Arch. Orthop. Unfallchirurg. 79, 255 (1974)

136. WEIGERT, M. : Anregung der Knochenbildung durch elektrischen Strom. Hefte z. Unfallheilkunde, Heft 115 (1973)

137. WERHAHN,C. u. M.WEIGERT : Die primäre Knochenbruchheilung unter dem Einfluß von elektrischem Gleichstrom. Z. Orthop. 112, 1974, 1226

138. WEIGERT, M., C.WERHAHN u. J.MÜLLER : Eine experimentelle Untersuchung über die Bedeutung von piezoelektrischen Phänomenen am mechanisch entlasteten Knochen in vivo. (in Vorbereitung)

139. WIESER,C. : Die primäre Knochenbruchheilung und ihre Störung im Röntgenbild. Langenbecks Archiv klin.Chir.Verhandlungen 81.Tagung, 434 (1964)

140. WILLENEGGER, H., R.SCHENK, T.STRAUMANN, M.MÜLLER M.ALLGÖWER, F.KRÜGER : Methodik und vorläufige Ergebnisse experimenteller Untersuchungen über die Heilvorgänge bei stabiler Osteosynthese an Schaftfrakturen. Langenbecks Arvh.f.klin.Chirurg.301, 846 (1962)

141. WILLENEGGER,H., S.M.PERREN, R.SCHENK : Primäre und sekundäre Knochenbruchheilung. Chirurg 42, 241 (1971)

142. WINTER,G.D. : Can healing be accelerated. J.Bone Jt. Surg. 51-B, 576 (1969)

143. WITTEBOL,P. : Stimulation of non-epiphyseal bone growth. Calc.Tiss. Res. 4(Suppl.) 122 (1970)

144. WOLFF,I. : Das Gesetz der Transformation der Knochen. Berlin: Hirschwald 1896

145. YASUDA,I. : On the piezoelectric activity of bone. J.Jap.Orthop.Soc.28, 267 (1954)

146. YASUDA,I. : Study on bone biodynamies. Summary in J.Bone Jt. Surg.40-A, 227 (1958)

147. YASUDA,I., K.NOGUCHI, T.SATA : Dynamic callus and electric callus. J.Bone Jt.Surg. 37-A, 1292 (1955)

148. YOSHIDKA,K. O'KONSIK,C.T. : Zitat bei Basset:Biophysical Prinzicples Affecting Bone Structure

Herr Professor Dr. med. M. Weigert überließ mir das Thema. Hierfür, für die Einweisung in die Versuchstechnik und für seine ständige Unterstützung bei der Anfertigung der Arbeit und der Lösung der damit verbundenen Probleme danke ich ihm.

Herrn Professor Dr. med. G. Friedebold danke ich für die Möglichkeit, die Untersuchungen im Oskar-Helene-Heim durchführen zu können.

Herrn Professor Dr. med. H.J. Merker danke ich für die Erlaubnis, die Mikroskope im Anatomischen Institut benutzen zu dürfen.

Herrn Professor Dr. med. W. Dürr danke ich für die freundliche Überlassung der Mikrosäge.

Frau Barbara Schierenbeck danke ich für sorgfältige Herstellung vieler histologischer Präparate.

Mit Dankbarkeit erwähne ich an dieser Stelle auch Herrn Assistenzarzt R. Bandow und Herrn cand. med. H. Mellerowicz für die hilfsbereite Unterstützung während der Durchführung der Arbeit.

Lebenslauf

Am 11. Januar 1949 wurde ich als Sohn des Kaufmanns Max Werhahn und seiner Ehefrau Anneliese, geb. Nüsse, in Berlin-Tiergarten geboren.
Von Ostern 1955 bis Ostern 1959 besuchte ich die Herz-Jesu-Schule in Charlottenburg. Von Ostern 1959 bis Ostern 1969 war ich Schüler am Canisius-Kolleg (Gymnasium) in Berlin-Tiergarten, wo ich am 6. Februar 1969 die Reifeprüfung bestand.
Seit dem Sommersemester 1969 bin ich an der Freien-Universität Berlin als Student der Zahnheilkunde immatrikuliert. Seit dem Sommersemester 1970 bin ich zusätzlich in der Humanmedizin inscribiert. Im Wintersemester 1969/70 bestand ich die naturwissenschaftliche Vorprüfung am Fachbereich 07 (Mund-, Zahn- und Kieferheilkunde), im folgenden Semester die naturwissenschaftliche Vorprüfung am Fachbereich 01 (Vorklinik). Im Sommersemester 1971 legte ich die ärztliche Vorprüfung am Fachbereich 01 ab. Im Wintersemester 1972 gab ich meinen Studienplatz in der Zahnheilkunde auf und setzte meine Studien in der Humanmedizin fort. Am 21. Februar 1975 bestand ich die letzte Prüfung des medizinischen Staatsexamens der Freien Universität Berlin.
Seit April 1970 bin ich in der Arbeitsgruppe von Herrn Prof. Dr. Weigert im Oskar-Helene-Heim tätig. Wir beschäftigen uns mit der Untersuchung von bioelektrischen Phänomenen am Knochen, ihren Einfluß auf den Knochenstoffwechsel und mit dem Problem der mikrochirurgischen Nervennaht. Im Rahmen dieser tierexperimentellen Untersuchungen überließ mir Herr Prof. Dr. Weigert im Jahre 1971 das Thema der vorliegenden Arbeit.

B. Ladewig - Dissertationsdruck - 1 Berlin 12 - Pestalozzistraße 106
Tel.: 3128885 - 3138198